

КАРАНТИН РАСТЕНИЙ НАУКА И ПРАКТИКА

ДЕКАБРЬ
4 | 14 | 2015

РУССКО-АНГЛИЙСКИЙ ЖУРНАЛ

**ОПАСНЫЕ КАРАНТИННЫЕ ВИДЫ
РОДА *AMBROSIA* В ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ** стр. 4

**РЕЖИМЫ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ЛЕСА
И ЛЕСОМАТЕРИАЛОВ ОТ ВРЕДИТЕЛЕЙ ДРЕВЕСИНЫ** стр. 45

**ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ
ФЕРОМОНОВ КАК ГАРАНТИЯ БИОБЕЗОПАСНОСТИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ** стр. 54

**DANGEROUS QUARANTINE SPECIES
OF THE GENUS *AMBROSIA*
IN THE VOLGOGRAD REGION** page 6

**SCHEDULES OF TIMBER AND TIMBER
PRODUCTS DISINFECTING AGAINST WOOD PESTS** page 50

**USE OF PHEROMONES IN PROTECTING
THE BIOLOGICAL SAFETY
OF THE RUSSIAN FEDERATION** page 56

RUSSIAN-ENGLISH JOURNAL

PLANT HEALTH RESEARCH AND PRACTICE

DECEMBER
4 | 14 | 2015

«КАРАНТИН РАСТЕНИЙ. НАУКА И ПРАКТИКА»

ДВУЯЗЫЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ №4 (14) 2015 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,
Юлиана Бададгулова
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, заместитель директора
Всероссийского НИИ
защиты растений

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

Павлюшин В.А. — академик РАН,
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. — Генеральный
директор ТОО «Казахский НИИ
защиты и карантина растений»

Сорока С.В. — 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»

Яковлева В.А. — кандидат
биологических наук, заместитель
директора ФГБУ «ВНИИКР»

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

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. — начальник
научно-методического отдела
фитопатологии

Скрипка О.В. — заведующая
лабораторией микологии

Потапов С.А. — начальник
отдела фитосанитарных рисков
и международного взаимодействия
(переводчик)

Вознесенский И.М. — заместитель
начальника отдела фитосанитарных
рисков и международного
взаимодействия (переводчик)

Шахманова З.Э. — переводчик
отдела фитосанитарных рисков
и международного взаимодействия

Дизайн и верстка:
Мария Поваляева

Корректор:
Татьяна Артемьева

**Менеджер по подписке
и дистрибуции:**
Игорь Алпатов
+7 (925) 357 20 61

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 23.12.2015 г. Тираж 2000 экземпляров.

СОДЕРЖАНИЕ CONTENT

I. НОВОСТИ I. NEWS

Опасные карантинные виды рода *Ambrosia*
в Волгоградской области

Dangerous Quarantine Species of the Genus *Ambrosia*
in the Volgograd Region

4 6

II. НАУЧНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ КАРАНТИНА РАСТЕНИЙ

II. RESEARCH STUDIES IN PLANT QUARANTINE

Изучение биологических особенностей самшитовой огневки
в процессе становления ее лабораторной культуры
А.Э. Нестеренкова, младший научный сотрудник отдела лесного
карантина ФГБУ «ВНИИКР»

Studies of the Biological Characteristics of Boxwood Moth
in the Developing of its Laboratory Culture
A.E. Nesterenkova, Junior Researcher of FGBU VNIKR's
Department of Forest Quarantine

8 11

Вязовый пилильщик-зигзаг *Aproceros leucopoda* Takeuchi, 1939
(Hymenoptera, Argidae) — экономически значимый вредитель вяза
из Восточной Азии, расширяющий инвазийный ареал
в европейской части России
А.Г. Блюммер, научный сотрудник отдела
лесного карантина ФГБУ «ВНИИКР»

Elm Sawfly-ziczag *Aproceros Leucopoda* Takeuchi, 1939
(Hymenoptera, Argidae) — Economically Significant Pest
of Elm from East Asia, Expanding Invasive Area
in the European Part of Russia
A.G. Blummer, Researcher of FGBU VNIKR's
Department of Forest Quarantine

13 17

Разнообразие и экология зерновок рода *Callosobruchus* Pic, 1902
И.О. Камаев, начальник научно-экспериментального
отдела ФГБУ «ВНИИКР»
Н.И. Еришова, старший научный сотрудник
лаборатории энтомологии ИЭЦ ФГБУ «ВНИИКР»
Е.А. Соколов, ведущий научный сотрудник
научно-методического отдела энтомологии ФГБУ «ВНИИКР»

Diversity and Ecology of Bean Weevils of
the Genus *Callosobruchus* Pic, 1902
I.O. Kamaev, Head of FGBU VNIKR's Research and Testing Department
N.I. Ershova, Senior Researcher, FGBU VNIKR's
Laboratory of Entomology, Testing Expertise Centre
E.A. Sokolov, Leading Researcher, FGBU VNIKR's
Scientific-Methodological Department of Entomology

20 25

Диагностика вириода веретеновидности клубней картофеля
С.Б. Абросимова, м.н.с. научно-методического
отдела фитопатологии ФГБУ «ВНИИКР»
Ю.Н. Приходько, начальник научно-методического
отдела фитопатологии ФГБУ «ВНИИКР»

Detection and Identification of Potato Spindle Tuber Viroid
Svetlana B. Abrosimova, Junior Researcher at FGBU VNIKR's
Plant Pathology Research and Methodology Department
Yury N. Prikhodko, Chief of FGBU VNIKR's
Plant Pathology Research and Methodology Department

30 38

Режимы обеззараживания леса и лесоматериалов
от вредителей древесины
Р.К. Магомедов, ведущий научный сотрудник
группы обеззараживания ФГБУ «ВНИИКР»

Schedules of Timber and Timber Products
Disinfecting against Wood Pests
R.K. Magomedov, Leading Researcher FGBU VNIKR's
Disinfection Department

45 50

Практическое использование феромонов
как гарантия биобезопасности Российской Федерации
А.А. Кузин, заместитель начальника
отдела синтеза и применения феромонов ФГБУ «ВНИИКР»
Н.М. Атанов, ведущий научный сотрудник
лаборатории испытания и применения феромонов ФГБУ «ВНИИКР»
В.П. Князева, начальник
организационно-аналитического отдела ФГБУ «ВНИИКР»

Use of Pheromones in Protecting the Biological Safety
of the Russian Federation
Aleksey A. Kuzin, Deputy Head of FGBU VNIKR's
Department for Pheromone Synthesis and Use
Nikolay M. Atanov, Leading Researcher of FGBU VNIKR's
Department for Pheromone Synthesis and Use
Valentina P. Knyazeva, Head of FGBU VNIKR's
Organization and Analytics Department

54 56

ОПАСНЫЕ КАРАНТИННЫЕ ВИДЫ РОДА *AMBROSIA* В ВОЛГОГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

С.Е. Агеева и М.В. Грузинова, агрономы Волгоградского филиала ФГБУ «ВНИИКР»



Рис. 1. Амброзия многолетняя (Нехаевский р-н, июль 2014 года)

В Российском законодательстве карантинный объект определяется как вид вредителя, возбудителя болезни растений или сорного растения, который отсутствует или ограниченно распространен на территории России, но может быть занесен или может проникнуть самостоятельно извне и вызвать значительные повреждения растений и растительной продукции.

Среди карантинных существуют и особенно опасные виды, наносящие урон не только сельскому хозяйству, но и непосредственно самому человеку.

В Волгоградской области распространены три вида таких карантинных объектов. Это карантинные сорные растения — *Ambrosia artemisifolia* (амброзия полыннолистная), *Ambrosia trifida* (амброзия трехраздельная), *Ambrosia psilostachia* (амброзия многолетняя).

Амброзия многолетняя на территории Волгоградской области встре-

чается исключительно на пастбищах. Посевы сельскохозяйственных культур не засоряет. Из-за вызываемой аллергической реакции на пыльцу — поллиноза (чаще всего — аллергические риниты) — представляет опасность для населения. Распространяется с автомобильным транспортом и с сельскохозяйственными животными (в пищеварительном тракте), возможно, с сеном. На пастбищах может доминировать благодаря малой съедобности. Предпочитает песчаные почвы. В Волгоградской области амброзия многолетняя впервые была обнаружена в 1957 году в хозяйствах Нехаевского района.

В 1952 году в Волгоградской области были обнаружены два вида рода Амброзия: амброзия полыннолистная в Алексеевском районе и амброзия трехраздельная в Новоаннинском районе. Данные карантинные объекты на территории Волгоградской области охотно поселяются в городах и поселках. Амброзия полыннолистная произрастает на тер-

Рис. 2. Амброзия многолетняя (Урюпинский р-н, июль 2015 года)



ритории Волгограда, Волжского, по всему правобережью Дона и Хопра, а также в Михайловском, Кумылженском, Новоаннинском и Новоиколаевском районах. Амброзия трехраздельная встречается на территории Урюпинского, Нехаевского, Алексеевского, Новониколаевского и Новоаннинского районов. Амброзия многолетняя — на территории Урюпинского, Нехаевского и Алексеевского районов.

Виды амброзии довольно легко отличимы по своему внешнему виду. Амброзия полыннолистная имеет рассеченный лист, похожий на листья полыни обыкновенной, но более зеленой окраски, и характерную метелку из мужских соцветий на вершине растения. Однолетнее растение. Стебель прямоугловый, прямостоячий, ветвящийся. В полевых условиях растения амброзии полыннолистной вырастают в среднем до 1 м высотой. Корень стержневой, веретеновидный, с мощным разветвлением, проникает в глубину до 4 м. Амброзия полыннолистная — преимущественно одно-



Рис. 3. Амброзия многолетняя (Урюпинский р-н, июль 2015 года)

Рис. 3. Амброзия многолетняя (Урюпинский р-н, июль 2015 года)

домное растение. Мужские цветки желтого цвета, собраны в корзинки по 5–25 цветков. Последние собраны в колосовидное соцветие, которое располагается на верхушках веток. Женские корзинки располагаются в пазухах листьев или у основания мужских соцветий, по 2–3 вместе. Амброзия полыннолистная размножается только семенами, которые образуются в большом количестве.

Все виды амброзии сильно ухудшают условия жизни населения. Во время цветения амброзий их пыльца разносится ветром и вызывает у людей аллергические реакции.

Амброзия многолетняя очень похожа на амброзию полыннолистную и полынь горькую, но несколько мельче и имеет корневище. Многолетнее корнеотпрысковое растение. Стебель у амброзии многолетней

Рис. 4. Амброзия многолетняя (Урюпинский р-н, июль 2015 года)

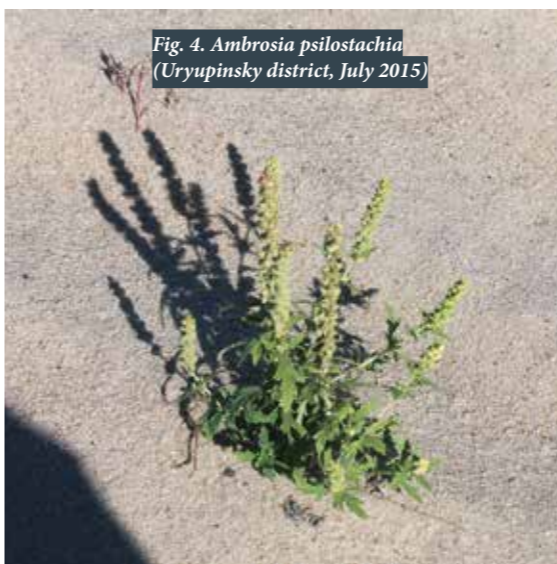


Рис. 4. Амброзия многолетняя (Урюпинский р-н, июль 2015 года)

прямой, ветвистый, достигающий в высоту 1 м и более. Размножается в основном корневой порослью, корневищами и отрезками корней. Корневая поросль располагается мелко: на необрабатываемых землях — у самой поверхности, на обрабатываемых — на глубине пахотного горизонта. Цветение амброзии многолетней в условиях Волгоградской области отмечается с первой декады июля. Семена созревают во второй половине августа. Амброзия многолетняя имеет более сжатый

цикл развития, чем амброзия полыннолистная. Она раньше зацветает и образует семена, и, кроме того, основной способ ее размножения — вегетативный. Следовательно, она располагает возможностями для занятия большего ареала, чем амброзия полыннолистная.

Амброзия трехраздельная — самая крупная из них: до 2 метров высотой, и ее лист глубоко надрезан на части. Однолетнее растение. По внешнему виду, особенно в начальные фазы роста, напоминает сорное растение, не являющееся карантинным, — *Cyclachaena xanthiifolia* (циклахену дурнишниковую), которую население часто неверно называет амброзией. Но у циклахены лист цельный, не разделенный на части, а у настоящей амброзии трехраздельной четко глубоко рассечен на три-пять частей. Стебель у амброзии трехраздельной прямой, бороздчатый, ветвистый, к концу вегетации деревенеющий. Корень мочковатый. Амброзия трехраз-

дельная размножается только семенами.

Как уже говорилось, все виды амброзии сильно ухудшают условия жизни населения. Во время цветения амброзий их пыльца разносится ветром и вызывает у людей аллергические реакции.

Но так как виды амброзии еще в достаточной степени не акклиматизировались в регионе и не распространились широко, то возможна эффективная борьба с ними. Согласно законодательству Российской Федерации бороться с карантинными сорными растениями обязаны землепользователи и владельцы тех мест, в которых они обнаружены.

Управление Россельхознадзора по Ростовской и Волгоградской областям и Республике Калмыкия проводит обследования земель и дает предписания по борьбе с карантинными объектами в случае их выявления. Каждый может внести посильный вклад, уничтожив эти сорные растения на своем участке, в палисаднике или во дворе.

В борьбе с амброзиями основным методом является эффективный прием залужения необрабатываемых участков земли, полос отчуждения, обочин дорог и пустырей, своевременное уничтожение сорняка до наступления фазы цветения. Наиболее подходящее время — июнь — начало июля. Ликвидация очагов карантинных сорняков производится методом ручной прополки со сбором всей выколотой растительности и ее последующим уничтожением методом захоронения на глубину не менее 50 см или сжигания (при соблюдении всех правил пожарной безопасности). Скашивание растений триммером или косой недопустимо, так как при этом само растение не уничтожается, а только укорачивается, и продолжает расти, цвести и давать семена.

Крупные очаги целесообразно обрабатывать гербицидами, допущенными для использования на территории поселений и частных участков. В настоящее время это препараты на основе глифосата.

Внимательность и активность граждан позволит успешно ликвидировать эти опасные сорные карантинные растения в Волгоградской области.

DANGEROUS QUARANTINE SPECIES OF THE GENUS *AMBROSIA* IN THE VOLGOGRAD REGION

S.E. Ageeva and M.V. Gruzinova, agronomists of FGBU VNIKR's Volgograd Branch

According to the Russian legislation a quarantine object is defined as a species of pest, pathogen or weed plants that are absent from or have a restricted localization in the territory of Russia, but can be entered or may enter on its own from the outside and cause significant damage to plants and plant products.

There are especially dangerous species among the quarantine pests, causing damage not only to agriculture, but also directly to people.

In the Volgograd region two types of such quarantine pests are spread. These are quarantine weeds – *Ambrosia artemisifolia* (ragweed), *Ambrosia trifida* (trifid ambrosia), *Ambrosia psilostachia* (perennial ragweed).

In the Volgograd region *Ambrosia psilostachia* is found exclusively on pastures. It does not contaminate agricultural crops. Due to allergic reactions caused by pollen – pollinosis (usually – allergic rhinitis) – it presents a danger to the population. It is spread by automobile transport and farm animals (in the digestive tract), probably, with hay. It can dominate on pastures because of low edibility. It prefers sandy soils. In the Volgograd region *Ambrosia psilostachia* was first detected in 1957 in the farms of Nekhayevsky region.

In 1952, in the Volgograd region there were found two species of the genus *Ambrosia*: *Ambrosia artemisifolia* in Alexeyevskiy district and *Ambrosia trifida* in Novoanninsky district. These quarantine pests settle down in towns and cities of the Volgograd region. *Ambrosia artemisifolia* grows on the territory of Volgograd, Volga and throughout the right bank of the Don and Khopyor rivers, as well as in Mikhailovskoe, Kumylzhensky,



Рис. 5. Амброзия полыннолистная (Некхаевский р-н, июнь 2014 года)

Fig. 5. *Ambrosia artemisifolia* (Nekhaevsky district, June 2014)

Novoanninsky and Novonikolayevsky districts. The *Ambrosia trifida* is found on the territory of the Uryupinsk Nekhaevsky, Alekseevsky, Novonikolayevsk and Novoanninsky regions. *Ambrosia psilostachia* is found on the territory of Uryupinsk, Nekhaevsky and Alekseevsky districts.

Ambrosia species can be easily distinguished by appearance. *Ambrosia artemisifolia* has a dissected leaf, similar to leaves of *Artemisia vulgaris*, but of a deep green colour, and a characteristic panicle of male inflorescences at the top of the plant. It is an annual plant. The stem is square, upright, branching. In

the field *Ambrosia artemisifolia* grows to an average height of 1 m. Taproot is fusiform, with strong branching, penetrates to a depth of 4 m. *Ambrosia artemisifolia* is mostly monoecious plant. Male flowers are yellow, collected in anthodia of 5-25 flowers. The flowers are collected in spike inflorescence located at the tips of branches. Pistillate anthodia are located in the leaf axils or at the base of male inflorescences by 2 or 3 anthodia. *Ambrosia artemisifolia* reproduces only by seeds, which are produced in large quantities.

Ambrosia psilostachia is very similar to *Ambrosia artemisifolia* and *Ambrosia absinthium* but slightly smaller and has a rhizome. It is a perennial offset root



Рис. 6. Амброзия полыннолистная (Некхаевский р-н, июнь 2014 года)

Fig. 6. *Ambrosia artemisifolia* (Nekhaevsky district, June 2014)

forming plant. *Ambrosia psilostachia* has a straight, branched stem reaching a height of 1 or more meters. It propagates mainly by root shoots, rhizomes and root sections. The coppice shoot is located not deep: on uncultivated lands – at the surface, and on the cultivated lands at a depth of arable layer. Flowering of *Ambrosia psilostachia* in the Volgograd region is recorded from the first decade of July. Seeds ripen in late August. *Ambrosia psilostachia* has a more compressed development cycle than *Ambrosia artemisifolia*. It blooms earlier and forms seeds, and, moreover,

Рис. 8. Амброзия трехраздельная (Руднянский р-н, июнь 2014 года)



Рис. 8. Амброзия трехраздельная (Руднянский р-н, июнь 2014 года)



Рис. 7. Амброзия полыннолистная (Некхаевский р-н, июнь 2014 года)

Fig. 7. *Ambrosia artemisifolia* (Nekhaevsky district, June 2014)

All *Ambrosia* species considerably worsen the living conditions of the population. During ragweed flowering wind-born pollen cause allergic reactions in humans.

the main way of its reproduction is vegetative. Therefore, it is able to occupy a larger area than *Ambrosia artemisifolia*.

Ambrosia trifida is the largest of them: up to 2 meters high and with leaves deeply incised into pieces. It is an annual plant. Its appearance, especially in the initial phase of growth, resembles a weed that is not a quarantine one, *Cyclachena xanthiifolia* (sumpfweed) that people

Рис. 9. Амброзия трехраздельная (Руднянский р-н, июнь 2014 года)



Рис. 9. Амброзия трехраздельная (Руднянский р-н, июнь 2014 года)

often incorrectly call ambrosia. But *Cyclachena xanthiifolia* has an entire leaf, not divided into parts, and the true *Ambrosia trifida* has a clearly deeply dissected into three to five parts leaf. The stem of *Ambrosia trifida* is straight, grooved, branched, that legnifies by the end of the growing season. The root is fibrous. *Ambrosia trifida* reproduces only by seed.

As mentioned before, all *Ambrosia* species considerably worsen the living conditions of the population. During ragweed flowering wind-born pollen cause allergic reactions in humans.

Since *Ambrosia* species have not still sufficiently established in the region and have not spread widely, it can effectively be controlled. According to the legislation of the Russian Federation all land users and owners of those places where quarantine weeds are found are obliged to control them.

The Directorate of Rosselkhozna-dzor of the Rostov and Volgograd regions and the Republic of Kalmykia conducts surveys of lands and gives orders to control quarantine pests when detected. Everyone can make a contribution to destroying these weeds on his homestead plots, garden or yard.

The most effective method of controlling ragweeds is the grassing of uncultivated land, using bands of alienation, roadsides and wastelands, and the timely eliminating of the weed prior to the flowering phase. The most favourable period for it is June and early July. Quarantine weed hotspots are eliminated by hand-weeding with all the wastes being collected and destructed by burial at a depth of 50 cm or incineration (in compliance with all fire safety regulations). Mowing plants by trimmer is prohibitive, as the plant itself is not destroyed, but only gets shorter, and continues to grow, flower and produce seeds. Large hotspots are advisable to treat with herbicides approved for use on the territory of settlements and private lands. Currently they are glyphosate-based drugs.

Awareness and activity of citizens can help successfully eliminate these dangerous quarantine weed plants in the Volgograd region.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ САМШИТОВОЙ ОГНЕВКИ в процессе становления ее лабораторной культуры

А.Э. Нестеренкова, младший научный сотрудник отдела лесного карантина ФГБУ «ВНИИКР»

Самшитовая огневка *Cydalima perspectalis* Walker — агрессивный первичный вредитель леса (рис. 1). Гусеницы огневки повреждают различные виды самшита (*Viburnum* sp.), причем уничтожают не только листья растения, но начиная с третьего-четвертого возраста объедают и кору.

На территории юга европейской России вид был впервые выявлен в районе Большого Сочи осенью 2012 года.

На территории юга европейской России вид был впервые выявлен в районе Большого Сочи осенью 2012 года. Вероятнее всего, вредитель был занесен из питомников Средиземноморья с саженцами самшита и, судя по тому, что уже в течение следующего, 2013 года, огневка была выявлена в Новороссийске, Краснодаре и Грозном, занос был множественным

Рис. 1. Бабочка самшитовой огневки

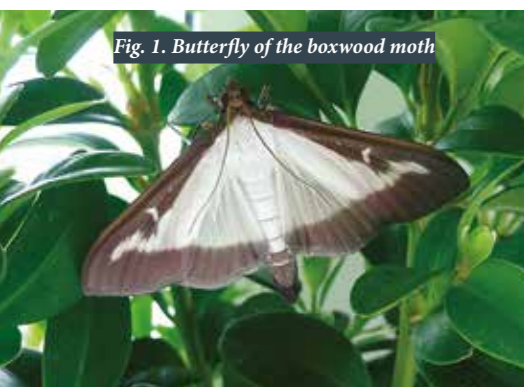


Fig. 1. Butterfly of the boxwood moth

(Гниненко и др., 2014). За счет естественного разлета имаго вредитель активно широко расселяется по югу России, повсеместно оголяя самшит, как в искусственных озеленительных посадках, так и в природных лесных массивах (рис. 2). В настоящее время огневка отмечена практически по всему Черноморскому побережью Кавказа, а также в Абхазии, Грузии и Турции (Карпун и др., 2015), весной 2015 года официально выявлена в Крыму.

Особую опасность огневка представляет для распространенного в горах Кавказа эндемичного релик-

Рис. 2. Бордюрная посадка самшита, уничтоженная гусеницами огневки



Fig. 2. The border planting of boxwood, destroyed by moth armyworm

тового вида — самшита колхидского (*Viburnum colchicum* Pojark.). Защита его от огневки является очень острой проблемой, поскольку большая часть популяций самшита колхидского произрастает на охраняемых территориях, на которых запрещено применение каких-либо химических мер борьбы с вредителями. Аналогичная проблема возникает и при повреждении самшита вечнозеленого *Viburnum sempervirens* L., широко применяемого в городских озеленительных посадках и рекреационных зонах.

В сложившейся ситуации как никогда важно незамедлительно разработать комплекс экологически безо-

Fig. 3. Climatic chamber for breeding of boxwood moth



Рис. 3. Климатическая камера для разведения самшитовой огневки

пасных мер по борьбе с самшитовой огневкой. Однако биологические методы достаточно эффективны лишь при своевременном обнаружении локальных, недавно обосновавшихся, пока еще немногочисленных популяций вредителя. Одним из средств раннего выявления вреди-

Защита его от огневки является очень острой проблемой, поскольку большая часть популяций самшита колхидского произрастает на охраняемых территориях, на которых запрещено применение каких-либо химических мер борьбы с вредителями.

телей леса являются феромонные ловушки.

С целью разработки эффективного феромонного препарата для самшитовой огневки во Всероссийском центре карантина растений (ФГБУ «ВНИИКР») проводится работа по созданию устойчивой лабораторной популяции этого особо опасного вредителя. В случае успеха данная культура позволит проводить работы по изучению самшитовой огневки практически круглогодично.

Исходный биоматериал был получен из Крыма в конце апреля 2015 г.

В соответствии с условиями содержания гусеницы были разделены на две линии:

- гусеницы линии А развивались в помещении лаборатории при естественном освещении и комнатной температуре (25 ± 2 градуса);
- гусеницы линии В были помещены в климатическую камеру с инвертированным фотопериодом

(9.00–17.00 — тень, 17.00–9.00 — свет) при постоянной температуре 18 °С и постоянной относительной влажности 80% (рис. 3).

Кормом для гусениц служили срезанные листья и молодые веточки самшита (разведение на искусственном корме (ИПС) может оказывать влияние на соотношение компонен-

тов и даже на состав феромона и поэтому нежелательно при изучении феромонов насекомых).

Вылетевших бабочек выпускали на спаривание в сетчатый садок (30 × 30 × 30 см) и подкармливали 5%-м раствором меда или сахара (Nacambo et al., 2013) на ватных тампонах, помещенных в половинки чашки Петри диаметром 40 мм. При регулярной

Рис. 5. Кладка яиц самшитовой огневки

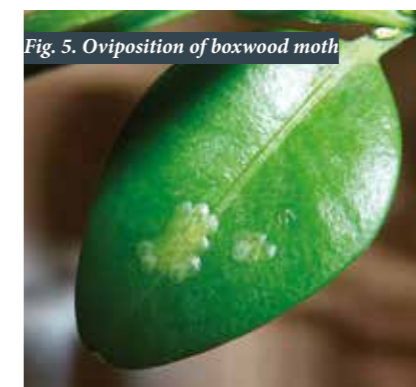


Fig. 5. Oviposition of boxwood moth

Fig. 4. A holding cage for imago



Рис. 4. Садок для имаго

замене поилок каждые 2–3 дня максимальная продолжительность жизни вылетающих бабочек составила 26 дней.

Для откладки яиц в садок ставили срезанные веточки самшита, помещенные в пузырьки с водой (рис. 4). Каждая самка делала более десятка кладок (преимущественно с нижней стороны листа) по 10–28 яиц (рис. 5). Средняя плодовитость самки при этом составляла 189 яиц, максимальная — до 250.

Гусениц младших возрастов (рис. 6) содержали в стеклянных лабораторных цилиндрах ($V = 2$ л), закрытых сверху легкими пластиковыми

Рис. 6. Гусеницы первого возраста



Fig. 6. Armyworm of first age



Fig. 7. Armyworm of older age

по оптимизации состава синтетического феромона самшитовой огневки (рис. 10–11).

Благодарность

Выражаем большую благодарность сотрудникам Главного Ботанического сада РАН Л.Г. Серой и В.А. Крючковой, аспиранту РГАУ МСХА им. К.А. Тимирязева В.В. Чернолиху, а также сотрудникам ФГБУ «ВНИИКР» С.А. Федосову и И.К. Шахраманову за помощь в обеспечении подопытных насекомых свежим кормом.

Литература

1. Гниненко Ю.И., Ширяева Н.В., Щуров В.И. Самшитовая огневка — новый инвазивный организм в лесах российского Кавказа // Карантин растений. Наука и практика, 2014, № 1. С. 32–39.

2. Карпун Н.Н., Игнатова Е.А., Журавлева Е.Н. Новые виды вредной энтомофауны на декоративных древесных растениях во влажных субтропиках Краснодарского края (ФГБНУ ВНИИ цветоводства и субтропических культур, г. Сочи) // (spbftu.ru>User Files/Image/kataev/2015, online published).

3. Nacambo S., Leuthard F.L.G., Wan H., Li H., Haye T., Baur B., Weiss R.M., Kenis M. Development characteristic of box-tree moth *Cydalima perspectalis* and its potential distribution in Europe // Journ. of Applied Entomol., 2013 (online published).

крышками. Веточки самшита в этом случае также ставили в пузырьки с водой.

Гусениц старших возрастов при достижении ими длины 20–25 мм во избежание свойственного данному виду каннибализма рассаживали по 5 шт. примерно одинакового размера в пластиковые чашки Петри диаметром 90 мм. В линии А для сохранения более высокой влажности чашки были помещены в пустой прямоугольный аквариум (50 × 25 × 30 см), прикрытый листом пенопласта.

Куколки в процессе развития меняли цвет с изумрудно-зеленого на охристо-коричневый (рис. 9).

Экспериментально определенным для гусениц младших возрастов порог развития составил 8 °С.

Насекомые линии А проходили полный цикл развития за 35–40 дней, у линии В развитие растягивалось до 60–64 дней, что соответствует сумме эффективных температур порядка 620–630 градусо-дней.

Для линии А стадия гусеницы составляла около трех недель (20–23 дня), стадия куколки — 8–14 дней. Средняя масса гусеницы перед окукливанием составляла 304,73 мг, средняя масса молодой куколки — 182,97 мг. Процент окукливания гусениц при отсутствии каннибализма достигал 87,5, процент выхода имаго из куколок — 100.

Для линии В стадия гусеницы составляла 30–35 дней, стадия куколки — 19–25 дней. Средняя масса гусеницы перед окукливанием составляла 326,71 мг, средняя масса молодой куколки — 230,6 мг. Окукливалось без повреждений 68,3% гусениц, все бабочки (100%) успешно вылетели из куколок.

Рис. 7. Гусеницы старшего возраста

Максимальная длина взрослой гусеницы составляла 35 мм (рис. 7). Средняя прожорливость гусениц составляла приблизительно 70 листьев самшита (при средней массе листа самшита 67,8 мг), что ориентировочно соответствует 4746 мг зеленого корма за период жизни гусеницы. Иными словами, одна гусеница способна оголить 50–70 см ветвей самшита.

По итогам проделанной работы можно констатировать, что самый трудный и ответственный этап культурального процесса — введение вида в культуру — успешно пройден. В настоящее время насекомые интенсивно используются в опытах

Рис. 8. Предкуколка самшитовой огневки



Fig. 8. Prepupae of boxwood moth

STUDIES OF THE BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF BOXWOOD MOTH in the developing of its laboratory culture

A.E. Nesterenkova, Junior Researcher of FGBU VNIKR's Department of Forest Quarantine

Boxwood moth *Cydalima perspectalis* Walker — is an aggressive primary forest pest (Fig. 1). Armyworm of the moth damages various species of boxwood (*Buxus* sp.), and destroys not only the leaves of the plant, but since the third-fourth age it eats around the bark.

On the territory of the south of the European Russia the species was first detected in the Bolshoi Sochi region in autumn of 2012. Most likely, the pest was transported from the Mediterranean nursery with seedlings of boxwood and, as in the next 2013, the moth was detected in Novorossiysk, Krasnodar and Grozny, and the introduction was multiple (Gninenko et al., 2014). Due to the natural flying-off of pest's adults actively distributed widely in the south of Russia, debarking boxwood, both in

On the territory of the south of the European Russia the species was first detected in the Bolshoi Sochi region in autumn of 2012.

artificial greenery planting, and in natural forests (Fig. 2). Currently moth is recorded on the entire Black Sea coast as well as in Abkhazia, Georgia and Turkey (Karpun et al., 2015). In spring of 2015 it is officially detected in Crimea.

Moth represents a special danger for the spread in the Caucasus mountainous endemic and relict species — boxwood Colchis (*Buxus colchica* Pojark.). Its protection against moth is a very serious problem, since most of the population of *Colchis* boxwood grows in protected areas, which prohibits the use of any chemical pest management. A sim-

ilar problem arises when evergreen boxwood *Buxus sempervirens* L. is affected. It is widely used in urban landscaping, plantings and recreational areas.

In this situation, it's more important than ever to develop immediately a complex of environmentally safe measures to control moth boxwood. However, the biological methods are effective only in the timely detection of local, recently estimated and yet not numerous pest population. Pheromone traps are means of early detection of forest pests.

In order to develop an effective pheromone inputs for boxwood moth the specialists of the All-Russian Centre for Plant Quarantine (FGBU VNIKR) are working to create a sustainable laboratory population of the dangerous pest. If it is success, this culture will allow researching the boxwood moth almost year round.

The starting material was achieved from Crimea in late April 2015.

In accordance with conditions the armyworms were divided into two lines:

- the armyworms of **A** line in the developed in the laboratory room with natural lighting and room temperature (25 ± 2 °C);

- the armyworms of **B** line were placed in a climatic chamber with an inverted photo-period (9.00–17.00 — shadow, 17.00–9.00 — light) at a constant temperature of 18 °C and a constant relative humidity of 80% (Fig. 3).

Nutrition for larvae were cut leaves and young twigs of boxwood (breeding on artificial nutrition (AN) can affect the ratio of the components and even the composition of the pheromone and therefore is not recommended at the study of insect pheromones).

The flying moths were released for mating in a mesh tank (30 × 30 × 30 cm)

Fig. 9. The pupae of different ages



Рис. 9. Куколки разного возраста



Рис. 10. Фрагмент установки для сбора летучих компонентов феромона

Fig. 10. A moment of setting for collecting of the volatile components of pheromone

and fed with 5% solution of honey or sugar (Nacambo et al., 2013) on a cotton swab placed in a Petri dish-halves of 40 mm in diameter. At regular replacing of drinkers every 2–3 days the maximum age of life for flying butterflies was 26 days.

The cut twigs of boxwood were used for oviposition in the tank, placed in vials with water (Fig. 4). Each female had laid more than a dozen nests (mainly from the lower side of the sheet) of 10–28 eggs (Fig. 5). The average fertility of the females in this case was 189 eggs, maximum — up to 250.

The armyworms of first ages (Fig. 6) were contained in glass test cylinders ($V = 2\text{ l}$), covered on top with light plastic caps. The boxwood twigs were also placed into vials with water.

The armyworms of elder age at length of 20–25 mm were set off by 5 pcs of one size into the plastic Petri dish with a diameter of 90 mm in order to avoid cannibalism. In line A in order to preserve

Рис. 11. Бабочки самшитовой огневки, пойманные на синтетический феромон



Рис. 11. Бабочки самшитовой огневки, пойманные на синтетический феромон

higher humidity the cups were placed in an empty rectangular tank ($50 \times 25 \times 30\text{ cm}$), covered with a sheet of foam.

The pupae in the development process changed colour from emerald green to ocher-brown (Fig. 9).

The experimentally determined for larvae of younger age the minimum effective temperature was 8°C .

Insects of line A passed a full cycle of 35–40 days development, in the line B development prolonged up to 60–64 days, which corresponds to the sum of

Its protection against moth is a very serious problem, since most of the population of Colchis boxwood grows in protected areas, which prohibits the use of any chemical pest management.

effective temperatures of 620–630 degree-days.

For the line A the armyworm-stage lasted about three weeks (20–23 days), pupal-stage — 8–14 days. The average mass of armyworm before pupation was 304.73 mg, average weight of young pupa — 182.97 mg. The percentage of armyworm pupate in the absence of cannibalism reached 87.5, the percentage of adults released from the pupae was 100.

For line B in the armyworm-stage was 30–35 days, the pupa-stage — 19–25 days. The average mass of armyworm before pupation was 326.71 mg, the average weight of young pupa — 230.6 mg. 68.3% of armyworms pupated undamaged, all butterflies (100%) successfully flew from pupae.

The maximum length of adult armyworm was 35 mm (Fig. 7). The average voracity of armyworm was approximately 70 leaves of boxwood (with an average weight of boxwood leaf 67.8 mg), which approximately corresponds to 4746 mg of green forage over the life cycle of an armyworm. In other words, one armyworm is able to bare 50–70 cm of boxwood branches.

As a result of this work we can say that the most difficult and crucial stage of cultural process — the introduction of species in culture — was successfully passed. At present, the insects are used extensively in experiments on the optimization of the synthetic pheromone of the boxwood moth (Fig. 10–11).

Acknowledgment

We express our gratitude to the staff of the Main Botanical Garden RAS L.G. Seraya and V.A. Kryuchkova, a graduate

student of the K.A. Timiryazev Academy V.V. Chernolikh, as well as to the specialists of FGBU VNIKR S.A. Fedosov and I.K. Shahramanov for help in providing fresh food to test insects.

References

- Gninenko Y.I., Kireeva N.V., Schurov V.I. Boxwood moth — a new invasive pest in the forests of the Russian Caucasus // Plant Quarantine. Science and Practice, 2014, № 1. p. 32–39.
- Karpun N.N., Ignatova E.A., Zhuravleva E.N. New types of harmful entomofauna on ornamental woody plants in the humid subtropics of Krasnodar region (FGBNU Institute of Floriculture and Subtropical Crops, Sochi) // (spbftu.ru>User Files/Image/kataev/2015, online published).
- Nacambo S., Leuthard F.L.G., Wan H., Li H., Hays T., Baur B., Weiss R.M., Kenis M. Development of characteristics of boxwood-tree moth *Cydalis perspectalis* and its potential distribution in Europe // Journ. of Applied Entomol., 2013 (online published).

Рис. 12. Климатическая камера для разведения огневки



Рис. 12. Климатическая камера для разведения огневки

ВЯЗОВЫЙ ПИЛИЛЬЩИК-ЗИГЗАГ *APROCEROS LEUCOPODA* TAKEUCHI, 1939 (HYMENOPTERA, ARGIDAE) — экономически значимый вредитель вяза из Восточной Азии, расширяющий инвазийный ареал в европейской части России

А.Г. Блюммер, научный сотрудник отдела лесного карантина ФГБУ «ВНИИКР»

Пилильщики — группа семейств подотряда сидячебрюхие (Symphyta) отряда перепончатокрылых насекомых (Hymenoptera). Широко распространены по земному шару. Наиболее богата их фауна в умеренном и холодном поясах Северного полушария.

На личиночной стадии большая часть видов питаются живыми растительными тканями.

Преимущественно олигофаги, полифагия встречается редко. Среди пилильщиков известны экономически значимые вредители ценных декоративных и лесных древесных растений. К вредителям леса, наносящим ощутимый ущерб, относятся живущие на сосне *Diprion pini* и *Neodiprion sertifer*, *Acantholyda posticalis*. Ели и лиственнице существенный вред могут причинять виды *Gilpinia*, *Cephalcia* и некоторые Nematinae (<http://www.zin.ru...>).

Вязовый пилильщик-зигзаг относится к семейству Argidae. В мире известно более 900 видов этого семейства, в России — около 100 видов. Среди них много вредителей культурных и декоративных растений. У 14 видов определены и внесены

в базы данных нуклеотидные последовательности участка гена COI (www.barcodinglife.org; www.ncbi...).

Род *Aproceros* включает 9 видов, обитающих преимущественно в Японии и Китае (Taeger et al., 2010). В России, помимо *A. leucopoda*, два вида (на Дальнем Востоке).

Одним из наиболее опасных вредителей вязов, или ильмов, в Евразии является пилильщик *Aproceros leucopoda*. В русскоязычной литературе встречаются несколько его названий, но, мы будем использовать то, что устоялось в практике работы карантинной фитосанитарной службы.

Вязовый пилильщик-зигзаг восточноазиатского происхождения. В Японии он считается вредителем вяза (*Ulmus* spp.). Обитает здесь на нескольких островах. Научное описание вида было сделано Такеучи в 1939 г. по экземплярам с острова Хоккайдо (Takeuchi, 1939).

В начале текущего века этот пилильщик был выявлен на востоке Китая (Xing-yu, Heng, 2006). Он указан также и для юга Дальнего Востока России (Желоховцев, Зиновьев, 1995).

Длина тела взрослого насекомого — 5–7 мм. Имеет две пары хорошо развитых крыльев. Передне-спинка черно-оранжевого цвета, брюшко — черно-зеленое, антенны — оранжево-черные, ноги — бледно-зеленые, крылья — дымчато-черные (рис. 1). Особи, вышедшие из перезимовавших куколок, отличаются по окраске от незимовавших. У них передне-спинка, брюшко и антенны черной окраски, а ноги — бежевые.

Aproceros leucopoda — поливольтинный вид, дающий в природном, восточноазиатском, ареале четыре поколения в год. Взрослые особи летней генерации активны с июня по август.

Зимует в стадии эонимфы — взрослой личиночной формы, закончившей питание.

Насекомое способно к партеногенетическому размножению, что значительно увеличивает его темп размножения.

В европейской части России развитие одной генерации занимает четыре недели. Лет имаго начинается в первой декаде мая и продолжается до конца сентября (Щуров и др., 2012).



Fig. 1. *Aproceros leucopoda*. Imago of unhibernated generation. In the background — the net cocoon with a pupate false caterpillar (photo: Forest protection center of Krasnodar Territory, 2010)

Рис. 1. *Aproceros leucopoda*. Имаго незимовавшей генерации. На заднем плане — сетчатый кокон с окукливающейся ложногусеницей (фото: ЦЗЛ Краснодарского края, 2010)

Самки откладывают яйца по одному в верхнюю часть краевых зубчиков листовой пластинки вяза. В Европе личинки вредителя (их называют ложногусеницами за внешнее сходство с гусеницами бабочек) выходят из яиц в середине мая и начинают питаться тканями листа (рис. 2). Погрызы ими листовой пластинки имеют зигзагообразную форму, за что насекомое и получило свое название (рис. 4). Личинки съедают лист полностью, оставляя только центральную жилку.

Личиночных возрастов шесть. На их развитие до 6-го возраста уходит 15–18 дней. Ложногусеницы 6-го возраста сплетают кокон, либо прикрепленный к нижней поверхности листа и имеющий сетчатую структуру (рис. 3), либо более компактный, плотностенный, который плетется в подстилке или в почве под деревом.

Интродукция *A. leucopoda* в Европу произошла, вероятно, в 2000–2001 годах из Китая, с саженцами вяза и другим посадочным материалом для декоративных посадок или лесовосстановительных работ. Кокон насекомого могли быть завезены с деревянной упаковкой товаров, паллетами, катушками для кабеля и т.п.

Появление вязового пилильщика-зигзага на европейском континенте впервые зафиксировано в 2003 году в Венгрии и в том же году — в Польше (Blank et al., 2010). Вселенец стал активно расселяться по странам Восточной Европы. Проник в Румынию (2006) и в том же году — на Украину, где в Луганской и Харьковской области приблизился почти к границе с Россией. К 2009 г.

На территории России первые особи *Aproceros leucopoda* обнаружены в северных и северо-восточных районах Краснодарского края, а также в Егорлыкском районе Ростовской области в 2010 году.

он уже занял большую часть территории Венгрии (Csoka, 2010; Vetek, 2010) проник в Словакию (2009), Молдову (2011), Чехию (2013).

В Западной Европе известен пока лишь из Австрии (первая находка — 2009 г.) и Германии (Kraus et al., 2011).

В Южной Европе впервые выявлен в 2009 году в Италии. В 2010 г. найден в Сербии, в 2011 г. — в Хорватии и Словении.

По странам Европы *A. leucopoda* распространялся, вероятнее всего, с наземным транспортом, поскольку его часто обнаруживали на вязах в линейных насаждениях, примыкающих к транспортным магистралям.

Так, в Италии его первое обнаружение связано с придорожными насаждениями вяза у автомобильной дороги А23 между городами Удине в регионе Фриули — Венеция-Джулия и Тревизо (регион Венето) (Zandigiacomo, 2011).

На территории России первые особи *Aproceros leucopoda* обнаружены в северных и северо-восточных районах Краснодарского края, а также в Егорлыкском районе Ростовской области в 2010 году. Массовое размножение инвазивного пилильщика отмечено в искусственных насаждениях вяза *Ulmus pumila* вдоль федеральных автотрасс М4 и М29, а также второстепенных и полевых дорог, железнодорожных магистралей южного направления.

Во многих районах Ростовской области в 2011 году наблюдалась крупная вспышка численности инвазивного вредителя. В июле отмечалась сильная дефолиация вяза на протяжении сотен километров полей защитных и придорожных насаждений от границы области с Краснодарским краем и почти до границы с Воронежской областью. Заселенной оказалась вся западная половина Ростовской области (Артохин и др., 2012).

В 2010 г. впервые ложногусеницы *A. leucopoda* отмечены на *U. pumila* в Ульяновской области (Ленгесова, Мищенко, 2013).

В 2011 году инвайдер был выявлен в Ставропольском крае (www.old.vniilm).

В результате проведенных обследований в июле 2012 года специалистами ВНИИЛМ пилильщик-зигзаг был найден в городских озеленительных посадках города Пушкино Московской области. Его личинки питались здесь листвой вяза *U. pumila*. При проведении обследований лиственных культур в Пореченском участковом лесничестве Бородинского лесхоза 5 июля на единичных деревьях вяза гладкого (*U. laevis*) были обнаружены питающиеся, еще немногочисленные личинки *A. leucopoda*. Таким образом, в 2012

году пилильщик-зигзаг встречался как на востоке, так и на западе Московской области.

В 2015 году инвазивный фитофаг существенно расширил свой ареал и расселился уже по многим районам Ростовской области и Краснодарского края. Здесь он наносит существенный вред деревьям вяза нескольких видов, широко представленным в полевых насаждениях вдоль автомобильных и железных дорог.

По имеющимся в распоряжении автора сведениям, вязовый пилильщик *A. leucopoda* уже пересек границу Воронежской области.

Таким образом, в настоящее время вязовый пилильщик-зигзаг является транспалеарктическим с дизъюнктивным ареалом, состоящим из четырех частей: японской, российской дальневосточной, китайской и европейской.

В Европе пилильщик-зигзаг поражает несколько видов рода *Ulmus*, как местных, так и завезенных из Азии. К их числу относятся вязы: Давида (*U. davidiana*), горный (*U. glabra*), разрезной, или лопастной (*U. laciniata*), водный (*U. laevis*), полевой (*U. minor*), сибирский, как этот вид называют в Европе (*U. pumila*), а также интродуцированный японский (*U. japonica*).

Заселяются как парковые и придорожные насаждения, так и деревья в лесах искусственного происхождения

Повторяющаяся в течение нескольких лет подряд дефолиация не только ухудшает эстетическую ценность вязовых насаждений, но и уменьшает устойчивость отдельных деревьев и способствует поражению их патогенной микрофлорой.

В природных лесах. В Краснодарском крае нападает на два вида вязов: гладкий (*U. laevis*) и шершавый (*U. glabra*).

По наблюдениям, проведенным в Румынии, в начале июля дефолиация на отдельных деревьях вяза может достигать 74–98%. У деревьев, подвергшихся нападению *A. leucopoda*, в конце лета обычно почки распускаются повторно. Однако вновь образующиеся листья также уничтожаются личинками, что приводит к отмиранию ветвей и побегов (Blank et al., 2010) (рис. 5).

Повторяющаяся в течение нескольких лет подряд дефолиация



Fig. 2. Feeding false sawfly caterpillar (photo S.M. Blank, EPPO PQR Database, 2015)

Рис. 2. Питающаяся ложногусеница пилильщика (фото S.M. Blank, EPPO PQR Database, 2015)

не только ухудшает эстетическую ценность вязовых насаждений, но и уменьшает устойчивость отдельных деревьев и способствует поражению их патогенной микрофлорой.

Химическая борьба с инвазивным фитофагом может осуществляться лишь в природных лиственных лесах с той или иной долей вяза в древостоях, либо в вязовых насаждениях за пределами населенных пунктов.

Возможно использование таких разрешенных к применению в Российской Федерации в 2015 г. инсектицидов, как децис, КЭ [(25 г/л), 2 мл/10 л воды]; карбофос, СП [(100 г/кг), конц. 90 г/10 л воды]; кинмикс, КЭ, МЭ [(50 г/л), конц. 2,5 мл/10 л воды]. Против личинок первого и второго возрастов эффективны пиретроиды дельтаметрин и тефлубензурон (www.eppo.int...).

Биологический метод борьбы с *Aproceros leucopoda* не разработан. Установлено паразитирование на ложногусеницах единственной мухи-тахины *Blondelia nigripes*. Однако ее массовое разведение не имеет

смысла, поскольку эта муха поражает многие виды пилильщиков и чешуекрылых.

Возможно, в роли агента биологической борьбы могут быть использованы патогенные нематоды тех же видов, что успешно применяются в Республике Корея для борьбы с близкими к *A. leucopoda* видами пилильщиков рода *Arge*.

Какие же выводы можно сделать из вышесказанного? Вязовый пилильщик-зигзаг обладает высоким потенциалом размножения. На юге России может давать не менее трех поколений в год. Его способность к распространению хорошо видна на примере Краснодарского края. Так, если первые локальные вспышки фитофага были зафиксированы здесь в 2010 году, то уже в следующем он поразил в соседней Ростовской области сотни километров полей защитных и придорожных насаждений. При численности ложногусениц одна-две на лист наблюдалась сплошная дефолиация кроны (Щуров и др., 2012).

Вяз — ценная древесная порода. В Средней полосе и на юге европейской части России он широко используется в защитных лесонасаждениях, для залесения мест с экстремальными условиями среды. К тому же он является здесь едва ли не основной парковой породой.

Древесина вяза применяется для производства мебели, строганого шпона, в машиностроительном и столярном производстве и др.

Учитывая вышесказанное, можно с уверенностью утверждать, что пилильщик *Aproceros leucopoda* представляет большую угрозу для вяза юга европейской части России. Вяз может исчезнуть из посадок и прирванных лесов юга России.

Литература

1. Артохин К.С., Игнатова П.К., Терсков Е.Н. Новые для фауны Ростовской области, в том числе инвазионные, виды насекомых // Кавказский энтомологический бюллетень, 2012. Т. 8 (2). С. 199–202.
2. Артохин К.С., Игнатова П.К., Колесников С.И., Решетов А.А. Изменения в фауне перепончатокрылых насекомых Ростовской области и прогноз экологических последствий // Живые и биокосные системы, 2013. № 2. <http://www.jbks.ru/archive/issue-2/article-6>.
3. Желуховцев А.Н., Зиновьев А.Г. Список пилильщиков и рогахостов (Hymenoptera, Symphyta) фауны России и сопредельных территорий. I. // Энтомологическое обозрение, 1995. Т. 74, вып. 2. С. 395–415.
4. Ижевский С.С. Инвазия азиатских насекомых-фитофагов в европейскую часть России // Защита

и карантин растений, № 9, 2013. С. 35–39.

5. Ленгесова Н.А. Ильмовый пилильщик *Aproceros leucopoda* (Takeuchi, 1939) — новый для территории Ульяновской области вредитель вяза // Природа Симбирского Поволжья, 2012. 13. С. 136–139.
6. Ленгесова Н.А., Мищенко А.В. Биология, экология и молекулярно-генетическое исследование *Aproceros leucopoda* (Takeuchi, 1939) (Hymenoptera: Argidae) — вредителя вяза в среднем Поволжье // Кавказский энтомологический бюллетень, 2013. Т. 9 (1). С. 163–167.
7. Масляков В.Ю., Ижевский С.С. Инвазии растительоядных насекомых в европейскую часть России // М.: ИГРАН, 2011. 272 с.
8. Щуров В.И., Гниненко Ю.И., Ленгесова Н.А., Гниненко М.Ю. Ильмовый пилильщик в европейской России // Защита и карантин растений, 2012. № 2. С. 37–38.
9. Blank S.M., Hara H., Mikulas J. et al. *Aproceros leucopoda* (Hymenoptera, Argidae): an East Asia pest of elms (*Ulmus* sp.) invading Europe // Eur. J. Entomol., 2010. V. 107 (3), pp. 357–367.
10. Csoka G., Mikulas J., Blank S., Vetek G. A canjargos szilveladarazs (*Aproceros leucopoda* Takeuchi, 1939) megjelenese Magyarorszagon // Novenyvedelmi Tudomangos Napok 2010, Budapest, 2010, pp. 19–20.
11. Kraus M., Liston A.D., Taeger A. Die invasive Zick-Zack-Ulmen-

blattwespe *Aproceros leucopoda* Takeuchi, 1939 (Hymenoptera: Argidae) in Deutschland // Deutsche Gesellschaft für allgemeine und angewandte Entomologie, 2011. Hf. 25 (3), s. 117–119.

12. Seljak G. Six new alien phytophagous insect species recorded in Slovenia in 2011 // Acta Entomologica Slovenica, 20 (1): 31–44.
13. Taeger A., Blank S.M., Liston A.D. World Catalog of Symphyta (Hymenoptera) // Zootaxa, 2010. V. 2580, pp. 1–1064.
14. Takeuchi K. A systematic study on the suborder Symphyta (Hymenoptera) of the Japanese Empire // Tenthredo, 1939, V. 2, pp. 393–439.
15. Vetek G., Mikulas J., Csoka G., Blank S. A kanyargos szilveladarazs (*Aproceros leucopoda* Takeuchi, 1939) Magyarorszagon // Novenyvedelem, 2010, 46 (11): 519–521.
16. Xing-yu W., Heng X. A new record of the genus *Aproceros* Malaise (Hymenoptera: Argidae) from China // Entomotaxonomia, 2006. V. 28, no. 4, pp. 279–280.
17. Zandigiaco P., Cargnus E., Villani A. First record of the invasive sawfly *Aproceros leucopoda* infesting elms in Italy // Bulletin of Insectology. Department of Agroenvironmental Sciences and Technologies, 2011. V. 64 (1), pp. 145–149.
18. www.barcodinglife.org.
19. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>.
20. www.old.vniilm.ru/news/287-2012-07-06b.
21. <http://www.kcc.zag.m.jp/athalia/symphyta/argidae.htm>.
22. <http://szmn.sbras.ru/old/Hymenoptera/Symphyta/Argidae.htm>.
23. www.eppo.int/QUARANTINE/Alert_List/insects/aproceros_leucopoda.htm.
24. <http://www.zin.ru/labs/insects/Hymenopt/projects/Key-FE/pdf-4-5/0909-0961.pdf>.

ELM SAWFLY-ZICZAG *APROCEROS LEUCOPODA* TAKEUCHI, 1939 (HYMENOPTERA, ARGIDAE) – economically significant pest of elm from East Asia, expanding invasive area in the European part of Russia

A.G. Blummer, Researcher of FGBU VNIKR's Department of Forest Quarantine

Sawfly is a group of families of the suborder Symphyta (Symphyta), the order Hymenoptera (Hymenoptera). It is widely distributed all over the world being prevalent in the temperate and cold zones of the Northern hemisphere.

In the larval stage most species feed on living plant tissues.

They are predominantly oligophages, polyphagy being quite rare. There are economically significant pests of valuable ornamental and forest woody plants known among sawflies. There are forest pests, causing significant damage, and living on the pine *Diprion pini* and *Nediprion sertifer*, *Acantholyda posticalis*. Spruce and larch may be significantly affected by species *Gilpinia*, *Cephalcia* and some Nematinae (<http://www.zin.ru>).

Elm sawfly-ziczag belongs to the family Argidae. There are more than 900 species of that family all over the world, and about 100 species in Russia. There are pests of cultural and ornamental plants among them. In 14 species nucleotide sequences of the portion of the gene COI have been identified and included into database (www.barcodinglife.org; www.ncbi.nlm.nih.gov).

The genus *Aproceros* includes 9 species, mainly inhabiting Japan and China (Taeger et al., 2010). In Russia, besides *A. leucopoda*, there are two species (in the Far East).

One of the most dangerous pests of elm-trees or elms in Eurasia is a sawfly *Aproceros leucopoda*. In Russian litera-

ture it is known under various names, but we use the name well established in the quarantine phytosanitary service practice.

Elm sawfly-ziczag is of East-Asian origin. It is known to be an elm pest in Japan (*Ulmus* spp.). It inhabits several islands there. The scientific description of the species was performed by Takeuchi in 1939 by the samples from Hokkaido (Takeuchi, 1939).

At the beginning of the current century this sawfly was detected in eastern China (Xing-yu, Heng, 2006). It is also

It hibernates in the eonymph stage — adult larval form that already finished nutrition.

The insect is capable of parthenogenesis, which greatly increases the rate of reproduction.

In the European part of Russia the development of one generation takes four weeks. The flying of adults begins in the first ten days of May and lasts until the end of September (Schurov et al., 2012).

Females lay eggs one by one into the upper edge of the elm lamina. In Europe

In Russia the first species of *Aproceros leucopoda* were found in the northern and north-eastern parts of Krasnodar region, as well as in Egorlyksky district of Rostov region in 2010.

reported in the South of the Russian Far East (Zhelokhovtsev, Zinoviev, 1995).

The body length of an adult insect is of 5–7 mm. It has two pairs of well-developed wings. Pronotum is black and orange, abdomen is black and green, antenna — orange and black, legs — pale green, wings — smoky black (Fig. 1). Individuals coming from hibernated pupae differ in colour from the ones not hibernated. They have pronotum, abdomen and antenna of black colour and legs of beige colour.

Aproceros leucopoda — is a polyvoltine species giving in the natural East-Asian areal four generations per year. Adults of summer generation are active from June to August.

the pest larvae (called false caterpillars because of resemblance to moth caterpillars) come out of eggs in mid-May and begin feeding on leaf tissue (Fig. 2). Bites in lamina have a zigzag shape, for which the insect got its name (Fig. 4). Larvae eat leaves entirely, leaving only the central vein.

There are 6 ages of the larvae life cycle. It takes 15–18 days for it to develop to the 6th age. The false caterpillars of the 6th age weave a cocoon that either attaches to the bottom surface of the leaf having a mesh structure (Fig. 3), or a compact one, solidwalled, which is spun in the litter or soil under the tree.

A. leucopoda was introduced into Europe probably in 2000–2001 from Chi-

Fig. 3. Pupae in net cocoons (photo: Forest protection center of Krasnodar Region, 2010)



na, with elm seedlings and other planting material for ornamental planting or reforestation. Insect cocoons could be transferred with wooden packaging products, pallets, cable reels, etc.

The emergence of Elm Sawfly-zigzag on the European continent for the first time is recorded in 2003 in Hungary and in the same year — in Poland (Blank et al., 2010). The insect intruder started spreading actively into the Eastern Europe countries. It penetrated into Romania (2006) and the same year into Ukraine, where it came close to the Russian border in the Lugansk and Kharkov regions. By 2009 it has spread in the large part of Hungary (Csoka, 2010; Vetek, 2010), penetrated into Slovakia (2009), Moldova (2011), and the Czech Republic (2013).

In Western Europe it is known to occur only in Austria (the first record — 2009) and Germany (Kraus et al., 2011).

In Southern Europe it was first detected in 2009 in Italy. In 2010, it is found in Serbia, in 2011 — in Croatia and Slovenia.

Most probably, *A. leucopoda* spread over the European countries by the ground transportation, as it was often found at the elms in linear plantations adjacent to highways. Thus, in Italy its first detection is related to roadside elm plantings along the A23 motorway between the cities of Udine in the Friuli — Venezia Giulia and Treviso (Veneto Region) (Zandigiaco, 2011).

In Russia the first species of *Aproceros leucopoda* were found in the northern and north-eastern parts of Krasnodar region, as well as in Egorlyksky district of Rostov region in 2010. Mass reproduction of invasive sawfly is recorded in artificial plantings of elm *Ulmus pumila* along federal highways M4 and M29, as well as on the secondary and field roads, southbound railways.

There was a large outbreak of invasive pest observed in many areas of Rostov region in 2011. In July, there was a heavy defoliation of elm for hundreds of kilometers of shelterbelts and roadside plantings from the border with Krasnodar region, and almost to the border with Voronezh region. The whole western part of Rostov region turned out to be infested (Artokhin et al., 2012).

In 2010 false caterpillars of *A. leucopoda* were first reported on *U. pumila* in Ulyanovsk Region (Lengesova, Mishchenko, 2013).



Рис. 4. Типичные зигзагообразные погрызы листовых пластинок вяза (фото: E. Altenhofer, EPPO PQR Database, 2015)

Fig. 4. Typical zigzag bites in elm lamina (photo: E. Altenhofer, EPPO PQR Database, 2015)

In 2011 the invader was detected in Stavropol Region (www.old.vniilm.ru).

As a result of surveys conducted in July 2012 the VNIILM specialists found sawfly-zigzag in urban landscaping plantings in Pushkino, Moscow Region. Its larvae fed on the foliage of elm *U. pumila*. In surveys of deciduous trees in Porechensky forestry area of Borodino forestry farm on the 5th of July at trees of *U. laevis*, there were found few feeding larvae of *A. leucopoda*. Thus, in 2012 sawfly-zigzag occurred both in the east and west of Moscow region.

In 2015 the invasive phytophage considerably extended its areal and inhabited many districts of Rostov and Krasnodar Regions. It causes significant damage to elm trees of several species, widely represented in hedgerows and linear plantations along roads and railways.

According to data available to the author, elm sawfly *A. leucopoda* has already crossed the Voronezh region border.

The repeated for several consecutive years defoliation deteriorates the aesthetic value of elm plants, but also reduces the resistance of individual trees and facilitates the spread of pathogens.

Thus, at present elm sawfly-zigzag is a trans-palaearctic with a disjunctive habitat, consisting of four parts: Japanese, Russian Far East, Chinese and European.

Sawfly-zigzag affects several species of the genus *Ulmus* in Europe, both local and imported from Asia. They are elms: David (*U. davidiana*), montana (*U. glabra*), *U. laciniata*, water elm (*U. laevis*), field elm (*U. minor*), Siberian elm, as it is called in Europe (*U. pumila*), as well as the one introduced from Japan (*U. japonica*).

The insect inhabits parks and roadside plantings, trees in artificial and natural forests. In Krasnodar Region it attacks two types of elms: smooth elm (*U. laevis*) and rough elm (*U. glabra*).

According to observations carried out in Romania, in early July defoliation on individual elm trees can reach 74–98%. The trees attacked by *A. leucopoda*, usually bud bloom again in late summer. However, the newly formed leaves are repeatedly destroyed by larvae, thus leading to the dieback of branches and shoots (Blank et al., 2010) (Fig. 5).

The repeated for several consecutive years defoliation deteriorates the aesthetic value of elm plants, but also reduces the resistance of individual trees and facilitates the spread of pathogens.

Chemical control of invasive phytophagous insects can only be carried out in natural hardwood forests with varying percentage of elm in the stands or in the elm plantings outside settlement areas. In the Russian Federation in 2015 such authorized insecticides may be used as decis, emulsion concentrate

[(25 g/l), 2 ml/10 l of water]; carbophos, wettable powder [(100 g/kg), concentr. 90 g/10 l of water]; kinmix, emulsion concentrate, microemulsion [(50 g/l), concentr. 2.5 ml/10 l of water]. The most effective against larvae of the first and second ages are pyrethroids deltamethrin and teflubenzuron (www.eppo.int).

Biological control of *Aproceros leucopoda* is not developed yet. The only confirmed parasite of false larvae is fly-tachina *Blondelia nigripes*. However, its mass breeding is of no use, as it

affects many fly species of sawflies and Lepidoptera.

As a biological control agent one can use the pathogenic nematode of the same species as the ones successfully used in the Republic of Korea for control of the related to *A. leucopoda* species of sawflies of the genus *Arge*.

What conclusions can be made from the above? Elm sawfly-zigzag has a high reproductive potential. It can give at least three generations per year in the south of Russia. Its ability to spread easily is obvious on the example of Krasnodar Region. Thus, if the first local outbreaks of the phytophage were recorded here in 2010, the next year it affected in the neighboring Rostov region hundreds of kilometers of shelterbelts and roadside plantings. With only one or two false sawfly caterpillars per leaf total crown defoliation was observed (Schurov et al., 2012).

Elm is a valuable tree species. In the Central part of Russia and the south of the European part of Russia, it is widely used in protective forests, for afforestation of places with extreme environmental conditions. Besides, it is vitually the main park tree species.

Elm wood is used for furniture, sliced veneer, in machine-building and woodworking, etc.

Given the above, we can confidently assert that *Aproceros leucopoda* represents major threat to elm in the south of the European part of Russia. Elm may disappear from plantations and natural forests of southern Russia.

References

1. Artokhin K.S., Ignatova P.K., Ter-skov E.N. New species of insects for the

fauna of Rostov region, including invasive // Caucasian Entomol. Bulletin, 2012. V. 8 (2). p. 199-202.

2. Artokhin K.S., Ignatova P.K., Kolesnikov S.I., Reshetov A.A. Changes in the fauna of Hymenoptera in Rostov region and forecast of environmental consequences // Living and stagnant systems, 2013. № 2. <http://www.jbks.ru/archive/issue-2/article-6>.

3. Zhelokhovtsev A.N., Zinoviev A.G. List of sawflies and horntails (Hymenoptera, Symphyta) of the Russian fauna and adjacent territories. I. // Entomol. review, 1995. V. 74, adit. 2. p. 395-415.

4. Izhevsky S.S. Invasion of Asian phytophagous insects in the European part of Russia // Plant Protection and Quarantine, № 9, 2013. p. 35-39.

5. Lengesova N.A. Elm sawfly *Aproceros leucopoda* (Takeuchi, 1939) — new elm pest for the territory of Ulyanovsk region // Nature of Simbirsk Volga Area, 2012. 13. p. 136-139.

6. Lengesova N.A., Mishchenko A.V. Biology, ecology and molecular-genetic study of *Aproceros leucopoda* (Takeuchi, 1939) (Hymenoptera: Argidae) — elm pest in the Middle Volga // Caucasian entomological Bulletin, 2013. V. 9 (1). p. 163-167.

7. Maslyakov V.Y., Izhevsky S.S. Invasions of herbivorous insects in the European part of Russia // M.: ISRAS, 2011. 272 p.

8. Schurov V.I., Gninenko Y.I., Lengesova N.A., Gninenko M.Y. Elm sawfly in European Russia // Plant Protection and Quarantine, 2012. № 2. p. 37-38.

9. Blank S.M., Hara H., Mikulas J. et al. *Aproceros leucopoda* (Hymenoptera, Argidae): an East Asia pest of elms

(*Ulmus* sp.) invading Europe // Eur. J. Entomol., 2010. V. 107 (3), pp. 357-367.

10. Csoka G., Mikulas J., Blank S., Vetek G. A canjargos szilveldevarazs (*Aproceros leucopoda* Takeuchi, 1939) megjelenese Magyarorszagon // Novenyvedelmi Tudomangos Napok 2010, Budapest, 2010, pp. 19-20.

11. Kraus M., Liston A.D., Taeger A. Die invasive Zick-Zack-Ulmenblattwespe *Aproceros leucopoda* Takeuchi, 1939 (Hymenoptera: Argidae) in Deutschland // Deutsche Gesellschaft fur allgemeine und angewandte Entomologie, 2011. Hf. 25 (3), s. 117-119.

12. Seljak G. Six new alien phytophagous insect species recorded in Slovenia in 2011 // Acta Entomologica Slovenica, 20 (1): 31-44.

13. Taeger A., Blank S.M., Liston A.D. World Catalog of Symphyta (Hymenoptera) // Zootaxa, 2010. V. 2580, pp. 1-1064.

14. Takeuchi K. A systematic study on the suborder Symphyta (Hymenoptera) of the Japanese Empire // Tenthredo, 1939, V. 2, pp. 393-439.

15. Vetek G., Mikulas J., Csoka G., Blank S. A kanyargos szilveldevarazs (*Aproceros leucopoda* Takeuchi, 1939) Magyarorszagon // Novenyvedelem, 2010, 46 (11): 519-521.

16. Xing-yu W., Heng X. A new record of the genus *Aproceros* Malaise (Hymenoptera: Argidae) from China // Entomotaxonomia, 2006. V. 28, no. 4, pp. 279-280.

17. Zandigiaco P., Cargnuss E., Villani A. First record of the invasive sawfly *Aproceros leucopoda* infesting elms in Italy // Bulletin of Insectology. Department of Agroenvironmental Sciences and Technologies, 2011. V. 64 (1), pp. 145-149.

18. www.barcodinglife.org.

19. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>.

20. www.old.vniilm.ru/news/287-2012-07-06b.

21. <http://www.kcc.zag.m.jp/athalia/symphyta/argidae.htm>.

22. <http://szmn.sbras.ru/old/Hymenoptera/Symphyta/Argidae.htm>.

23. www.eppo.int/QUARANTINE/Alert_List/insects/aproceros_leucopoda.htm.

24. <http://www.zin.ru/labs/insects/Hymenopt/projects/Key-FE/pdf-4-5/0909-0961.pdf>.

Рис. 5. Дефолиация кроны вяза вследствие питания ложногусеницы пилильщика (фото: J. Mikulas, EPPO PQR Database, 2015)



РАЗНООБРАЗИЕ И ЭКОЛОГИЯ ЗЕРНОВОК РОДА *CALLOSBRUCHUS* PIC, 1902

И.О. Камаев, начальник научно-экспериментального отдела ФГБУ «ВНИИКР»

Н.И. Еришова, старший научный сотрудник лаборатории энтомологии ИЭЦ ФГБУ «ВНИИКР»

Е.А. Соколов, ведущий научный сотрудник научно-методического отдела энтомологии ФГБУ «ВНИИКР»

Зерновки рода *Callosobruchus* относятся к отсутствующим карантинным вредным организмам для территории Российской Федерации (Вредные организмы..., 2009). Основными способами распространения и переноса зерновок данного рода являются следующие: 1) с семенами различных бобовых культур; 2) с продовольственным и фуражным зерном бобовых культур; 3) с тарой, торговым оборудованием и транспортом; 4) активным разлетом жуков в пределах склада, помещения, предприятия, населенного пункта. Следует отметить, что виды рода *Callosobruchus* наносят вред не только хранящимся семенам бобовых культур, но и вегетирующим дикорастущим и культурным растениям данного семейства. Известен случай успешной акклиматизации вредителя гледичии *Megabruchidius tonkinea* (Pic, 1904) (ранее относившегося к *Callosobruchus*) из Вьетнама и Японии в Краснодарском крае, Германии и Венгрии (Korotyaev, 2011). Этот факт позволяет предполагать возможность акклиматизации видов *Callosobruchus*, не являющихся вредителями запасов, в южных регионах РФ.

В последние годы в связи с расширением торговых связей со странами Юго-Восточной Азии, Африки, Южной Америки значительно изменилась номенклатура ввозимой продукции, в частности, увеличались объемы ввоза свежих бобовых, а также семян новых бобовых продовольственных культур, декора-

тивных и лекарственных растений из стран распространения видов *Callosobruchus*.

В настоящее время в литературе нет единого мнения относительно объема рода *Callosobruchus*, кроме того, существующие определительные ключи охватывают лишь ограниченное число видов данного рода, относящихся преимущественно к вредителям запасов (Лукьянович, Тер-Минасян, 1957; Arora, 1977, 1978; Haines, 1989; Справочник-определитель..., 1999).

Данная работа посвящена обзору видового разнообразия, предварительной оценке объема и системе рода *Callosobruchus*, имеющего карантинное значение для Российской Федерации, а также характеристике экологических групп видов обсуждаемого рода.

Видовое разнообразие зерновок рода *Callosobruchus*

Нижеследующий список видов приводится на основе Каталога палеарктических жуков (Catalogue..., 2010), Базы данных Техаского сельскохозяйственного университета (2014) и статьи К.В. Антон (2000). Внешний вид и рисунок надкрылий некоторых видов представлен на рис. 1–4.

Callosobruchus aethiopicus Decelle, 1971

Callosobruchus analis (Fabricius, 1781)

Callosobruchus anjaliae Singal & Pajni, 1990

Callosobruchus antennatus Anton, 2000

Callosobruchus antennifer Singal & Pajni, 1990

Callosobruchus bhutanicus Decelle, 1977

Callosobruchus bicalcaratus Decelle, 1975

Callosobruchus cherenensis (Pic, 1939)

=*Callosobruchus omanicus* Anton, 1994*

Callosobruchus chinensis (Linnaeus, 1758)

Callosobruchus dolichosi (Gyllenhal, 1839)

Callosobruchus gibbicollis Borowiec, 1984

Callosobruchus eremitus Anton, 2000

Callosobruchus imitator Kingsolver, 1999

Callosobruchus indica Pajni & Ghosh, 1976

Callosobruchus latealbus (Pic, 1926)

=*Callosobruchus albobasalis* Chujo, 1937*

Callosobruchus latitarsis Decelle, 1969

Callosobruchus maculatus (Fabricius, 1775)

Callosobruchus montanus Anton, 2000

Callosobruchus multinigrus Singal & Pajni, 1990

Callosobruchus nigripennis (Allard, 1895)

Callosobruchus nigrinus Anton, 2000

Callosobruchus orientalis Anton, 2000

Callosobruchus phaseoli (Gyllenhal, 1833)

Callosobruchus pulcher (Pic, 1922)

Callosobruchus rhodesianus (Pic, 1902)

Callosobruchus semigriseus (Motschulsky, 1874)

Callosobruchus somalicus Decelle, 1979

Callosobruchus subinnotatus (Pic, 1914)

Callosobruchus theobromae (Linnaeus, 1767)

=*Callosobruchus cajanus* Arora, 1977*

=*Callosobruchus madurensis* (Pic, 1927)*

=*Callosobruchus taiwanensis* Chujo, 1937*

Callosobruchus utidai Tuda, 2003

Символом «*» обозначены виды, которые рассматриваются некоторыми авторами в качестве самостоятельных видов.

Виды зерновок, ранее относившиеся к роду *Callosobruchus* и упоминающиеся в работе Г.С. Саплиной и Л.М. Никритина (1985)

Callosobruchus ademptus (Sharp, 1886) перенесен в *Borowiecius* (Anton, 1999).

Callosobruchus dorsalis (Fehraeus, 1839) перенесен в род *Megabruchidius* (по Базе данных..., 2014).

Callosobruchus maindroni (Pic, 1914) перенесен в род *Specularius* (по Базе данных..., 2014); по данным Каталога палеарктических жуков (Catalogue..., 2010) является синонимом *Callosobruchus theobromae*.

Callosobruchus tonkiniensis — в настоящее время рассматривается в качестве *Megabruchidius tonkinea* (Pic, 1904) (Catalogue..., 2010).

Следует также отметить, что в работе Г.С. Саплиной и Л.М. Никритина (1985) приводятся виды, в настоящее время являющиеся синонимами других видов *Callosobruchus* (Catalogue..., 2010). Например, *Callosobruchus glaber* Allibert, 1847 и *Callosobruchus jekeli* Allibert, 1847 — синонимы *Callosobruchus analis* (Fabricius, 1781), *Callosobruchus albocallosus* (Pic, 1932) — синоним *Callosobruchus dolichosi* (Gyllenhal, 1839), *Callosobruchus marshalli* (Pic, 1902) — синоним *Callosobruchus rhodesianus* (Pic, 1902).

Система рода *Callosobruchus*

Основная часть видов зерновок подразделяется на две группы: *chinensis* и *maculatus* (табл. 1), которые



a)



b)

Рис. 1. Китайская зерновка (*Callosobruchus chinensis*): дорсальный вид (a) и вид сбоку (b), показан характерный признак вида — пятно из белых щетинок (a из Kingsolver, 2004; b фото Н.И. Еришовой)

Fig. 1. Chinese bruchid weevil (*Callosobruchus chinensis*): dorsal view (a) and a side view (b), characteristic feature of the species — a spot of white setae (a from Kingsolver, 2004; b photo by N.I. Ershova)

сравнительно хорошо различаются между собой по морфологическим признакам, прежде всего по строению гениталий (табл. 2; рис. 5, 6).

Группе *chinensis* свойственны гребенчатые усики у самцов (но не у всех видов, рис. 5) и следующие особен-

ности строения гениталий — эдеагус тонкий, две пластинки эндофаллуса, экзофаллическая вальва заостренная (рис. 7–8).

Для группы *maculatus* характерно наличие пальчатых усиков (особенно выражено у самцов), эдеагус несколько укорочен, не тонкий, число пластинок эндофаллуса варьирует от 0 до 6, экзофаллическая вальва треугольная (рис. 6, 9).

В целом такое деление подтверждается данными молекулярно-генетических исследований, сведениями о распространении видов и предпочитаемых кормовых расте-

Виды второй группы являются серьезными вредителями, зачастую имеющими карантинный статус во многих странах мира, т.к. способны размножаться в хранилищах запасов бобовых и на всех стадиях развития распространяться с соответствующей продукцией.

ности строения гениталий — эдеагус тонкий, две пластинки эндофаллуса, экзофаллическая вальва заостренная (рис. 7–8).

Для группы *maculatus* характерно наличие пальчатых усиков (особенно выражено у самцов), эдеагус несколько укорочен, не тонкий, число пластинок эндофаллуса варьирует от

0 до 6, экзофаллическая вальва треугольная (рис. 6, 9). В целом такое деление подтверждается данными молекулярно-генетических исследований, сведениями о распространении видов и предпочитаемых кормовых расте-

Экологические группы видов рода *Callosobruchus*

Виды рода *Callosobruchus* можно подразделить на две экологические

Таблица 1 Система рода *Callosobruchus* с примерами видов

Группа видов	Примеры видов
<i>maculatus</i>	<i>C. analis</i> , <i>C. maculatus</i> , <i>C. rhodesianus</i> , <i>C. subinnotatus</i>
<i>chinensis</i>	<i>C. antennatus</i> , <i>C. chinensis</i> , <i>C. eremitus</i> , <i>C. montanus</i> , <i>C. nigrinus</i> , <i>C. orientalis</i> , <i>C. pulcher</i> , <i>C. theobromae</i> , <i>C. gibbicollis</i> , <i>C. utidai</i>
?	<i>C. cajanus</i>
	<i>C. imitator</i> *
	<i>C. latealbus</i>
	<i>C. omanicus</i>
	<i>C. phaseoli</i>

Примечание: ? — положение данных видов в системе рода неясно;

* — ранее *C. imitator* относился к группе *chinensis*, однако молекулярно-генетические данные и сведения о его экологии свидетельствуют против этого (Tuda et al., 2006).

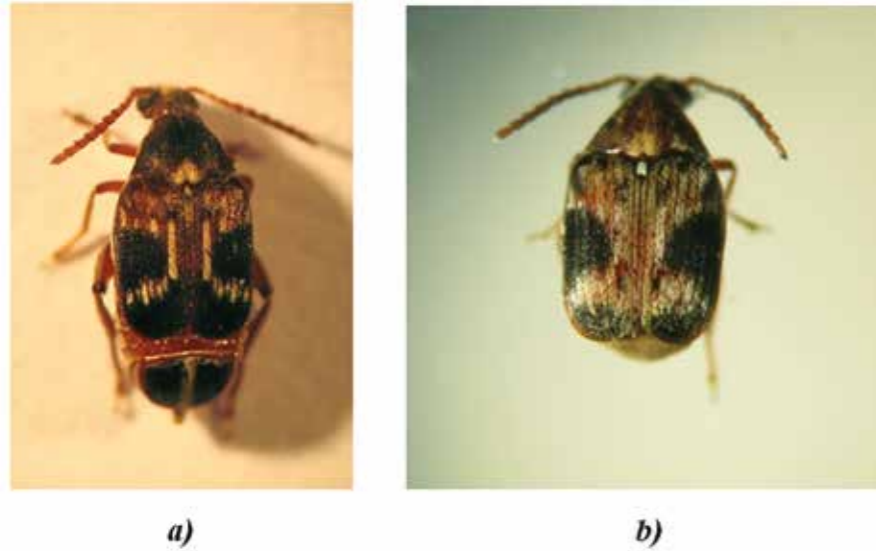


Рис. 2. Вариации окраски надкрылий самок четырехпятнистой зерновки (*Callosobruchus maculatus*) (из Камаева и Кузина, 2013)

Fig. 2. Variations in colour of elytral of cowpea bruchid weevil (*Callosobruchus maculatus*), female (from Kamaev and Kuzin, 2013)

группы, которые согласуются с их филогенией и морфологической дифференциацией (Tuda et al., 2005, 2006):

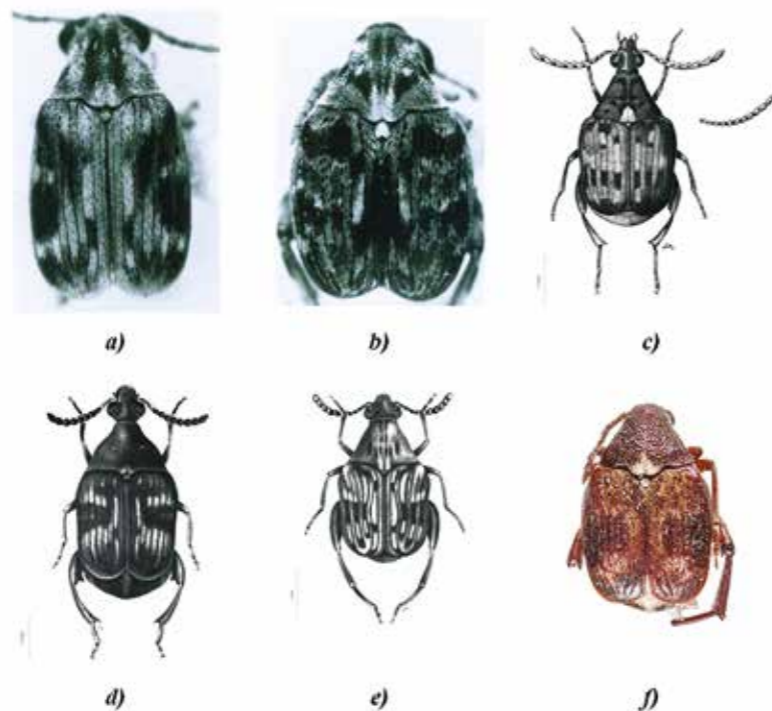
1. Комплекс видов, развивающихся на вегетирующих бобовых, преимущественно подсемейства Сajaninae (табл. 3). Это виды группы *chinensis*. Они в основном распространены во влажных тропиках с коротким засушливым сезоном и, как правило, имеют локальное географическое распространение. В большинстве случаев эти виды обитают в горной местности выше 800–1000 м над уровнем моря, где возможны периоды относительно низких температур в ночное время (Tuda, 2006). Для данной группы видов имагинальная диапауза является обязательной. Самки откладывают яйца исключительно на развивающиеся бобы вегетирующих растений. Основными предпочитаемыми растениями для зерновок данной группы являются виды подсемейства Сajaninae, но виды зерновок этого комплекса могут развиваться на свежих бобах видов Phaseolinae. Созревшие семена Сajaninae обладают очень толстой и прочной оболочкой, затрудняющей проникновение в них личинок *Callosobruchus* (Singh & Jaskai, 1985).

Некоторые виды, живущие на вегетирующих растениях, не представляют фитосанитарного риска для территории РФ. Это, вероятно, *C. utidai*, *C. latealbus*, *C. semigriseus*



Рис. 3. Внешний вид некоторых видов зерновок рода *Callosobruchus* (a-b из Kingsolver, 2004; c-e из Delobel, Tran, 1993; f фото Ю.А. Ловцовой): a) *C. phaseoli*, b) *C. pulcher*, c) *C. rhodesianus*, d) *C. subbinotatus*, e) *C. theobromae*, f) *C. analis*

Fig. 3. Appearance of some species of bruchid weevil of genus *Callosobruchus* (a-b from Kingsolver, 2004; c-e from Delobel, Tran, 1993; f photo by Y.A. Lovtsova): a) *C. phaseoli*, b) *C. pulcher*, c) *C. rhodesianus*, d) *C. subbinotatus*, e) *C. theobromae*, f) *C. analis*



с растением-хозяином на территории РФ при международной торговле крайне мала.

Возможность интродукции и акклиматизации на территории РФ видов *C. theobromae*, *C. pulcher*, *C. nigripennis*, *C. dolichosi* и др., являющихся серьезными, хотя ограниченно распространенными, вредителями сельского хозяйства, полностью исключить нельзя. Эти виды способны заселять семена экономически значимых бобовых культур исключительно в период вегетации и не являются вредителями запасов.

В настоящее время на территорию Российской Федерации часто и в значительных объемах ввозят свежие растения овощных и зеленных культур, относящихся к семейству бобовые, из стран Юго-Восточной Азии и Африки. В этом случае личинки *Callosobruchus* не успевают завершить свое развитие в семенах. При этом исключить возможность случайного завоза имаго *Callosobruchus* данной экологической группы с тарой, транспортом и т.п. и последующую их акклиматизацию не представляется возможным. На юге

России имеется подходящая кормовая база и, вероятно, подходящие климатические условия для акклиматизации *Callosobruchus pulcher*, *C. theobromae* и др.

2. Группа видов, развивающихся на сухих созревших бобах. Это в основном виды группы *maculatus*: *Callosobruchus maculatus*, *C. rhodesianus*, *C. subbinotatus*, *C. analis*, а также *C. chinensis* и *C. phaseoli*. Самки откладывают яйца как на развивающиеся, так и на созревшие бобы преимущественно видов Phaseolinae. Створки созревших бобов и оболочки семян Phaseolinae относительно тонкие, личинки заселяют семена и развиваются в них. Эти виды устойчивы к низкой влажности и способны распространяться в значительно более обширных географических регионах, чем виды первой группы.

Виды второй группы являются серьезными вредителями, зачастую имеющими карантинный статус во многих странах мира, т.к. способны размножаться в хранилищах запасов бобовых и на всех стадиях развития распространяться с соответствующей продукцией.

Литература

1. Вредные организмы, имеющие карантинное фитосанитарное значение для Российской Федерации: справочник / под ред. С.А. Данквер-

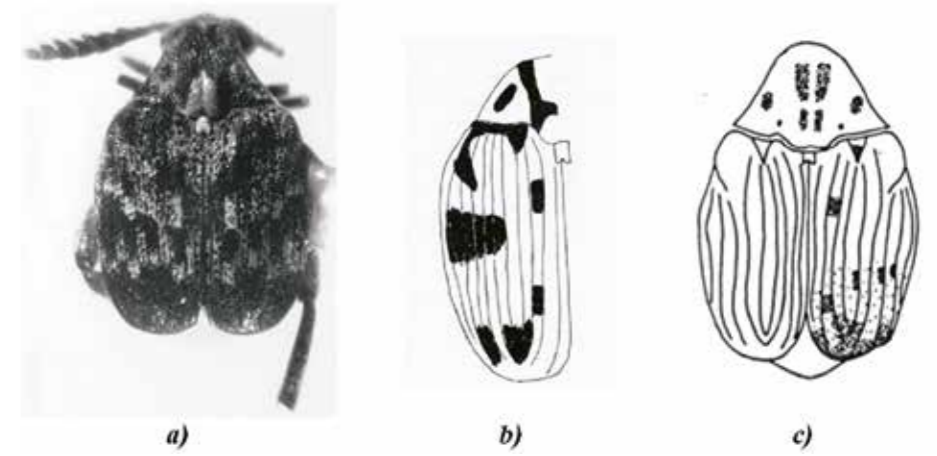


Рис. 4. Рисунок надкрылий зерновок рода *Callosobruchus* (a из Tuda, 2003; c из Kingsolver, 1999; d из Borowiec, 1984): a) *C. utidai*, b) *C. imitator*, c) *C. gibbicollis*

Fig. 4. Wing pattern of elytral of bruchid weevil of the genus *Callosobruchus* (a from Tuda, 2003; c from Kingsolver, 1999; d from Borowiec, 1984): a) *C. utidai*, b) *C. imitator*, c) *C. gibbicollis*

та, М.И. Маслова, У.Ш. Магомедова, Я.Б. Мордковича. Воронеж: Научная книга, 2009. 449 с.

2. Камаев И.О., Кузин А.А. Полифенизм и половой диморфизм четырехпятнистой зерновки *Callosobruchus maculatus* // Карантин растений. Наука и практика, 2013. № 4. С. 41–44.

3. Лукьянович Ф.К., Тер-Минасян М.Е. Жуки-зерновки (Bruchidae) // Фауна СССР. Жесткокрылые. Т. 24, вып. 1. М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1957. 209 с.

4. Саплина Г.С., Никритин Л.М. Инструктивные указания по определению зерновок рода *Callosobruchus*, встречающихся при досмотре им-

портной подкарантинной продукции. Москва, 1985. 18 с.

5. Спирина Т.С. Сравнительная морфология гениталий самца и самки двух форм четырехпятнистой зерновки *Callosobruchus maculatus* // Энтомологическое обозр., 1974. Т. III. Вып. 4. С. 752–76.

6. Справочник-определитель карантинных и других опасных вредителей сырья, продуктов запаса и посевного материала / Сост. Я.Б. Мордкович и Е.А. Соколов. М.: Колос, 1999. 384 с.

7. Anton K.W. The Bruchidae (Coleoptera) of Oman with description of a new genus and two new species // Fauna of Saudi Arabia. 1994. Vol. 14. P. 105–112.

Таблица 2
Морфология гениталий самцов некоторых видов *Callosobruchus* (по Tuda et al., 2006, с изм.)

Группа видов	Вид	Параметры	Пластинки эндофаллуса	Экзофаллическая вальва
<i>chinensis</i>	<i>C. chinensis</i>	У-образные, расширяются на вершине	2	заостренная
	<i>C. pulcher</i>			
	<i>C. utidai</i>			
	<i>C. dolichosi</i>			
	<i>C. nigripennis</i>			
	<i>C. theobromae</i>			
<i>maculatus</i>	<i>C. analis</i>	V-образные, широкие на вершине	2	треугольная
	<i>C. maculatus</i>		0–2	
	<i>C. subbinotatus</i>		2	
	<i>C. rhodesianus</i>		6	
	<i>C. imitator</i>	V-образные, узкие на вершине	2	заостренная
	<i>C. latealbus</i>	V-образные, широкие на вершине	2	треугольная
	<i>C. phaseoli</i>	V-образные, широкие на вершине	6	треугольная

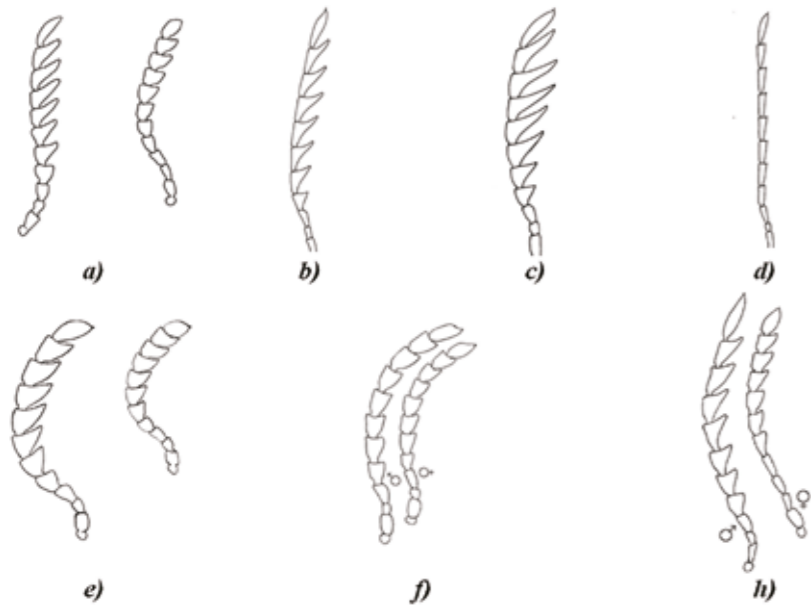


Рис. 5. Форма усиков видов рода *Callosobruchus* (a, e-h из Kingsolver, 2004; b-d из Anton, 2000): a) *C. chinensis*, b) *C. orientalis*, c) *C. nigritus*, d) *C. antennatus*, e) *C. pulcher*, f) *C. maculatus*, h) *C. phaseoli*. a, e-f – усик самца слева, самки справа, b-d – представлены усики самцов

Fig. 5. Antennae form of species of the genus *Callosobruchus* (a, e-h from Kingsolver, 2004; b-d from Anton, 2000): a) *C. chinensis*, b) *C. orientalis*, c) *C. nigritus*, d) *C. antennatus*, e) *C. pulcher*, f) *C. maculatus*, h) *C. phaseoli*. a, e-f – antennae of males on the left, females antennae on the right, b-d – male antennae presented

8. Anton K.W. Notes on *Borowiecius* Anton, with the description of a new species (Coleoptera: Bruchidae: Bruchinae) // Genus. 1999. Vol. 10. № 1. P. 65–72.

9. Anton K.W. Five new species of the *Callosobruchus chinensis* group from the Oriental Region and Australia (Coleoptera: Bruchidae: Bruchinae) // Genus. 2000. Vol. 10. № 1. P. 65–72.

10. Arora G.L. Taxonomy of the Bruchidae of North West India. Part I. Adults // Orient Insects. 1977. Vol. 7. P. 1–132.

11. Arora G.L. Taxonomy of the Bruchidae of North West India. Parts II. Larvae // Orient Insects. 1978. Vol. 8. P. 1–30.

12. Borowiec L. A new species *Callosobruchus* Pic from Ceylon (Coleoptera, Bruchidae) // Pol. Pismo Ent. 1984. T. 54. P. 303–307.

13. Catalogue of Palaearctic Coleoptera. Vol. 6: Chrysomeloidea / ed. I. Lobl & A. Smetana. Apollo Books, 2010. 924 p.

14. Delobel A., Tran M. Les Coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes. CTA, 1993. 424 p.

15. Haines C.P. Observations on *Callosobruchus analis* (F.) in Indonesia, including a key to storage *Callosobruchus* spp. (Col., Bruchidae) // Journal of Stored Products Research. 1989. Vol. 25. № 1. P. 9–16.

16. Kingsolver J.M. A new species of *Callosobruchus* (Coleoptera: Bruchidae) from Thailand and China // Entomological News. 1999. Vol. 110. P. 209–213.

17. Kingsolver J.M. Handbook of the Bruchidae of the United States and Canada (Insecta, Coleoptera). 2004. Vol. I & II.

18. Korotyaev B.A. On invasion of an east asian seed beetle, *Megabruchidius tonkineus* (Pic) (Coleoptera, Bruchidae), developing in Gleditsia Seeds, in the Northwest Caucasus // Entomological Review. 2011. Vol. 91. №. 9. P. 1167–1169.

19. Singh S.R., Jackai L.E.N. Insect pests of cowpea in Africa; their life cycle, economic importance, and potential for control // Cowpea Research, Production, and Utilization. Chichester, 1985. P. 217–231.

20. Tuda M. A new species of *Callosobruchus* (Coleoptera: Bruchidae) feeding on seeds of *Dunbaria* (Fabaceae), a closely related species to a stored-bean pest, *C. chinensis* // Journal Applied Entomology and Zoology. 2003. Vol. 38. № 2. P. 197–201.

21. Tuda M., Choub L.-Y., Niyomdham C., Buranapanichpan S., Tateishie Y. Ecological factors associated with pest status in *Callosobruchus* (Coleoptera: Bruchidae): high host specificity of non-pests to Cajaninae (Fabaceae) // Journal of stored products research. 2005. Vol. 41. № 1. P. 31–45.

22. Tuda M., Ronn J., Buranapanichpan S., Wasano N., Arnqvist G. Evolutionary diversification of the bean beetle genus *Callosobruchus* (Coleoptera: Bruchidae): traits associated with stored-product pest status // Molecular Ecology. 2006. Vol. 15. P. 3541–3551.

23. База данных Texas A&M University: <https://insects.tamu.edu>. Онлайн-доступ на 20.10.2014 г.

Таблица 3
Пищевые предпочтения видов рода *Callosobruchus* (по Tuda et al., 2006)

Виды, развивающиеся на вегетирующих бобах	Таксономическая принадлежность предпочитаемых видов растений	Виды — вредители запасов	Таксономическая принадлежность предпочитаемых видов растений
<i>C. pulcher</i>	Cajaninae, а также вегетирующие Phaseolinae	<i>C. phaseoli</i>	Phaseolinae
<i>C. teobromae</i>		<i>C. imitator</i>	
<i>C. dolichosi</i>		<i>C. subinnotatus</i>	
<i>C. semigriseus</i>		<i>C. maculatus</i>	
<i>C. utidai</i>		<i>C. rodesianus</i>	
<i>C. latealbus</i>		<i>C. analis</i>	
		<i>C. chinensis</i>	

DIVERSITY AND ECOLOGY OF BEAN WEEVILS OF THE GENUS *CALLOSBRUCHUS* PIC, 1902

I.O. Kamaev, Head of FGBU VNIKR's Research and Testing Department

N.I. Ershova, Senior Researcher, FGBU VNIKR's Laboratory of Entomology, Testing Expertise Centre

E.A. Sokolov, Leading Researcher, FGBU VNIKR's Scientific-Methodological Department of Entomology

The bruchid weevils in the genus *Callosobruchus* are absent quarantine pests on the territory of the Russian Federation (Pests, 2009). The main pathways for distribution and transporting of bruchid weevils of this genus are: 1) seeds of various pulses; 2)

food grains and forage grains of pulses; 3) packaging, commercial equipment and vehicles; 4) active flying of beetles within warehouses, premises, facility, village. It should be noted, that species of genus *Callosobruchus* affect not only the stored seeds of pulses, but also

vegetative wild and cultivated plants of this family. There is known a case of successful acclimatization of honey locust pest *Megabruchidius tonkinea* (Pic, 1904) (earlier related to *Callosobruchus*) from Vietnam and Japan in Krasnodar region, Germany and Hungary (Korotyaev, 2011). This fact suggests the possibility of acclimatization of species *Callosobruchus*, which are not known to be pest of storage in the southern regions of the Russian Federation.

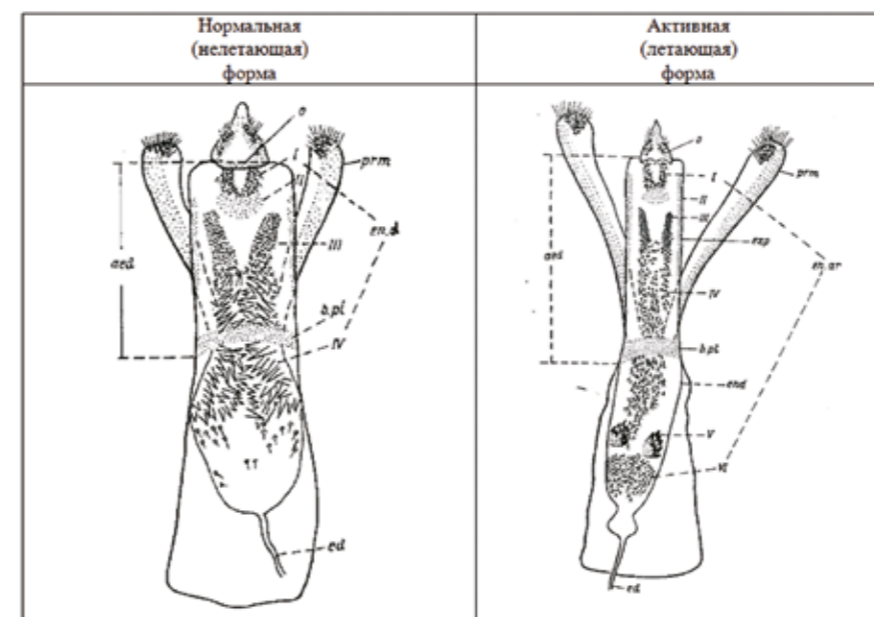
In recent years, due to the expansion of trade relations with the countries of South-East Asia, Africa, South America the nomenclature of imported products has significantly evolved, in particular, increased volumes of import of fresh pulses and seeds of new food pulses, ornamentals and medicinal plants from the countries where *Callosobruchus* species are spread.

Currently, there is no consensus in the scientific literature on the amount of the genus *Callosobruchus*, besides, the Identification keys cover only a limited number of species of this genus, mainly related to pests of storage (Lukyanovich, Ter-Minassian, 1957; Arora, 1977, 1978; Haines, 1989; Handbook-range, 1999).

The present work is dedicated to an overview of species diversity, a preliminary assessment of the amount and the system of the genus *Callosobruchus*, which is of quarantine significance for the Russian Federation, as well as the characteristics of ecological groups of the considered species.

Fig. 6. Genitalia of two types of *Callosobruchus maculatus* (from Spirina, 1974): aed – aedeagus; b.pl. – main plate; o – vertex opening in the exophallic valva; ed – ejaculatory duct; en.ar. – reinforcement of the interior bag; exp – exophallus; prm – parameres; I–VI – chitin formation of the inner wall endophallus, V – endophallus plate

Рис. 6. Гениталии двух форм *Callosobruchus maculatus* (из Спириной, 1974): aed – эдеагус; b.pl. – основная пластинка; o – вершинное отверстие в основании экзофаллической вальвы; ed – семяизвергательный канал; en.ar. – арматура внутреннего мешка; exp – экзофаллус; prm – парамеры; I–VI – хитиновые образования внутренней стенки эндофаллуса, V – пластинки эндофаллуса



Species diversity of bruchid weevils of the genus *Callosobruchus*

The following list of species is based on the Catalogue of Palaearctic Coleoptera (Catalogue, 2010), Database of Texas Agricultural University (2014) and the article of K.W. Anton (2000). The appearance and elytra pattern of some species is given in Figures 1–4.

Callosobruchus aethiopicus Decelle, 1971

Callosobruchus analis (Fabricius, 1781)

Callosobruchus anjaliae Singal & Pajni, 1990

Callosobruchus antennatus Anton, 2000

Callosobruchus antennifer Singal & Pajni, 1990

Callosobruchus bhutanicus Decelle, 1977

Callosobruchus bicalcaratus Decelle, 1975

Callosobruchus cherenensis (Pic, 1939)

=*Callosobruchus omanicus* Anton, 1994*

Callosobruchus chinensis (Linnaeus, 1758)

Callosobruchus dolichosi (Gyllenhal, 1839)

Callosobruchus gibbicollis Borowiec, 1984

Callosobruchus eremitus Anton, 2000

Callosobruchus imitator Kingsolver, 1999

Callosobruchus indica Pajni & Ghosh, 1976

Callosobruchus latealbus (Pic, 1926)

=*Callosobruchus albobasalis* Chujo, 1937*

Callosobruchus latitarsis Decelle, 1969

Callosobruchus maculatus (Fabricius, 1775)

Callosobruchus montanus Anton, 2000

Callosobruchus multinigrus Singal & Pajni, 1990

Callosobruchus nigripennis (Allard, 1895)

Callosobruchus nigritus Anton, 2000

Callosobruchus orientalis Anton, 2000

Callosobruchus phaseoli (Gyllenhal, 1833)

Callosobruchus pulcher (Pic, 1922)

Callosobruchus rhodesianus (Pic, 1902)

Callosobruchus semigriseus (Motschulsky, 1874)

Callosobruchus somalicus Decelle, 1979

Callosobruchus subinnotatus (Pic, 1914)

Callosobruchus theobromae (Linnaeus, 1767)

=*Callosobruchus cajanus* Arora, 1977*

=*Callosobruchus madurensis* (Pic, 1927)*

=*Callosobruchus taiwanensis* Chujo, 1937*

Callosobruchus utidai Tuda, 2003

The symbol «*» stands for species considered by some authors as separate species.

Species of bruchid weevils, earlier related to the genus *Callosobruchus* and mentioned in the G.S. Saplina and L.M. Nikritin (1985)

Callosobruchus ademptus (Sharp, 1886) transferred to *Borowiecius* (Anton, 1999).

Callosobruchus dorsalis (Fehraeus, 1839) transferred to the genus *Megabruchidius* (according to Database, 2014).

Callosobruchus maindroni (Pic, 1914) transferred to the genus *Specularius* (ac-

Callosobruchus tonkiniensis — at present is considered as *Megabruchidius tonkinea* (Pic, 1904) (Catalogue..., 2010).

It also should be noted, that according to G.S. Saplina and L.M. Nikritin (1985), there are mentioned species that are currently synonymous to other species *Callosobruchus* (Catalogue..., 2010). For example, *Callosobruchus glaber* Allibert, 1847 and *Callosobruchus jekeli* Allibert, 1847 — a synonym to *Callosobruchus analis* (Fabricius, 1781), *Callosobruchus albocallosus* (Pic, 1932) — a synonym to *Callosobruchus dolichosi* (Gyllenhal, 1839), *Callosobruchus marshalli* (Pic, 1902) — a synonym to *Callosobruchus rhodesianus* (Pic, 1902).

The system of the genus *Callosobruchus*

The major part of the bruchid weevil species is divided into two groups: *chinensis* and *maculatus* (Table 1), which relatively well differ in morphological

The species of the second group are dangerous pests often having a quarantine status in many countries, as they are able to reproduce in the storage reserves of pulses and to spread with the products at all stages of development.

according to Database, 2014); according to the Catalogue of Palaearctic Coleoptera (Catalogue, 2010) and is a synonym to *Callosobruchus theobromae*.

features, especially in the structure of their genitalia (Table 2; Fig. 5, 6).

The *chinensis* group is characterized by peculiar comb antennae in male

Fig. 7. Genitalia of species *Callosobruchus* of the *chinensis* group (a from Kingsolver, 2004; b from Borowiec, 1984; c-d from Anton, 2000): a)-b) *C. chinensis*, c) *C. antennatus*; d) *C. nigritus*

Рис. 7. Гениталии видов *Callosobruchus* группы *chinensis* (a из Kingsolver, 2004; b из Borowiec, 1984; c-d из Anton, 2000): a)-b) *C. chinensis*, c) *C. antennatus*; d) *C. nigritus*

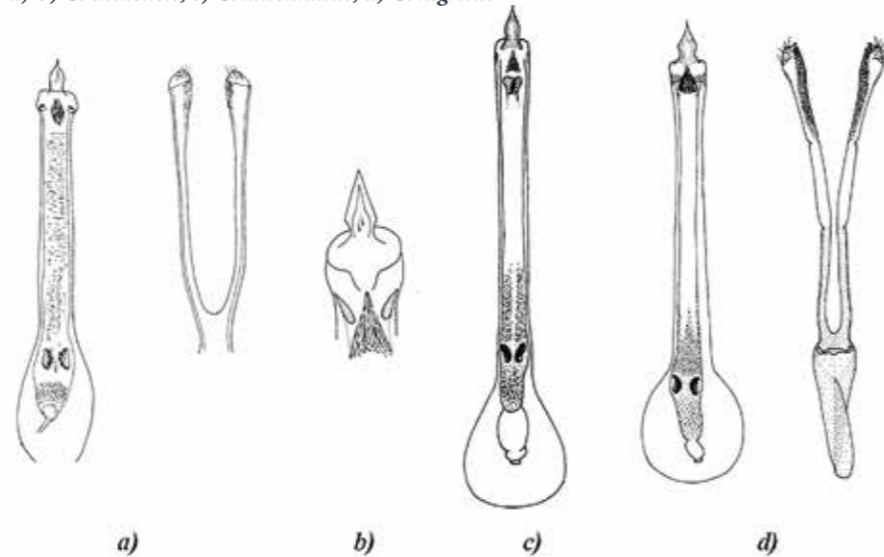


Table 1
The system of the genus *Callosobruchus* with examples of species

The group of species	Examples of species
<i>maculatus</i>	<i>C. analis</i> , <i>C. maculatus</i> , <i>C. rhodesianus</i> , <i>C. subinnotatus</i>
<i>chinensis</i>	<i>C. antennatus</i> , <i>C. chinensis</i> , <i>C. eremitus</i> , <i>C. montanus</i> , <i>C. nigritus</i> , <i>C. orientalis</i> , <i>C. pulcher</i> , <i>C. theobromae</i> , <i>C. gibbicollis</i> , <i>C. utidai</i>
?	<i>C. cajanus</i>
	<i>C. imitator</i> *
	<i>C. latealbus</i>
	<i>C. omanicus</i>
	<i>C. phaseoli</i>

Note: ? — position of these species in the system of the genus is unclear;
* — earlier *C. imitator* used to be related to the *chinensis* group, but molecular-genetic data and information about its ecology do not confirm this (Tuda et al., 2006).

(but not in all species, Fig. 5) and the following structural features of the genitalia — aedeagus is thin, two plates of endophallus, exo-phallic valves is pointed (Fig. 7–8).

The *maculatus* group is characterized by presence of ringed antennae (especially in males), aedeagus is a bit shorter, not thin, the number of endophallic plates varies from 0 to 6, exophallic valves is triangle (Fig. 6, 9).

In general, this division is confirmed by molecular genetic studies and data on the distribution of species and preference in forage plants (Tuda et al., 2006). At the same time, the system of the genus *Callosobruchus* needs to be precised, as not all species of this genus are comprehensively studied (Table 1, Fig. 10).

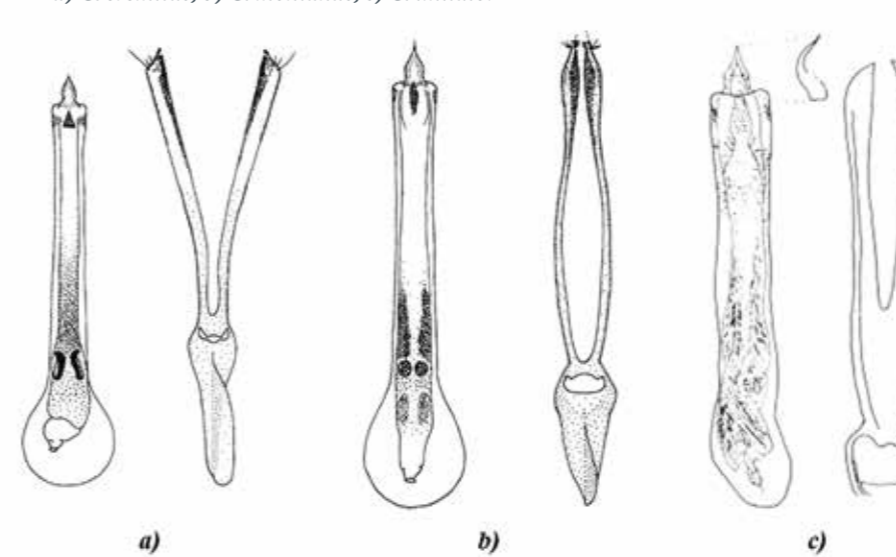
Ecological groups of species of the genus *Callosobruchus*

The species of the genus *Callosobruchus* could be divided into two ecological groups, which are consistent with their phylogeny and morphological differentiation (Tuda et al., 2005, 2006):

1. Complex of species developing on vegetating pulses, mainly of the subfamily Cajaninae (Table 3). These are species of the *chinensis* group. They are mainly distributed in the humid tropics with a short dry season and as a rule have local geographic distribution. In most cases, these species inhabit the highlands of 800–1000 m above sea level, where there may be periods of relatively low night temperatures (Tuda, 2006). For this group of species

Fig. 8. Genitalia of species *Callosobruchus* of the *chinensis* group (a-b from Anton, 2000; c from Kingsolver, 1999): a) *C. eremitus*, b) *C. montanus*, c) *C. imitator*

Рис. 8. Гениталии видов *Callosobruchus* группы *chinensis* (a-b из Anton, 2000; c из Kingsolver, 1999): a) *C. eremitus*, b) *C. montanus*, c) *C. imitator*



the imaginal diapause is obligatory. Females lay eggs exclusively on developing pods of vegetating plants. Mostly preferred plants for bruchid weevils of this group are species of the subfamily Cajaninae, but the species of bruchid weevils of this complex may develop on fresh pods of the Phaseolinae species. Ripe seeds of Cajaninae have very thick and hard shell that impedes penetration of the *Callosobruchus* larvae (Singh & Jackai, 1985).

Some species living in the vegetating plants do not pose phytosanitary risk for the territory of the Russian Federation. Probably these are *C. utidai*, *C. latealbus*, *C. semigriseus* and others, having no economic importance in the countries of distribution. They inhabit wild and inedible beans, preferably of the genus *Rhynchosia*, *Dunbaria*, *Cajanus*. There is quite a little probability of bringing of these species of bruchid weevils with a host plant into the Russian Federation in international trade.

Possibility of introduction and acclimatization in Russia of species *C. theobromae*, *C. pulcher*, *C. nigripennis*, *C. dolichosi*, etc., which are dangerous agricultural pests, though of limited distribution, cannot be completely excluded. These species are able to colonize the seeds of economically important pulses during the vegetation season only and are not pests of storage.

At present, large volumes of fresh vegetables and herbs are often imported, belonging to the family Fabaceae onto the territory of the Russian Federation from South-East Asia and Africa. In such cases the *Callosobruchus* larvae do not complete their development in seeds. At the same time the possibility of accidental introduction of *Callosobruchus* adults of this environmental group with packaging, transport, etc. and further establishment cannot be excluded. In the south of Russia there are suitable food reserves and probably suitable climatic conditions for establishment of *Callosobruchus pulcher*, *C. theobromae*, etc.

2. The group of species growing on dry ripened beans. It is basically a type of group *maculatus*: *Callosobruchus maculatus*, *C. rhodesianus*, *C. subinnotatus*, *C. analis*, and also *C. chinensis* and *C. phaseoli*. Females lay eggs both on developing and mature beans mostly of the Phaseolinae species. Folds of the ripe beans and tegmen of Phase-

Table 2
The morphology of the male genitalia of some species of *Callosobruchus* (Tuda et al., 2006, with amendments)

A group of species	Species	Parameres	Plates of endophallus	Exo-phallic valve
<i>chinensis</i>	<i>C. chinensis</i>	Y-shaped, expanded at the apex	2	Sharpened
	<i>C. pulcher</i>			
	<i>C. utudai</i>			
	<i>C. dolichosi</i>			
	<i>C. nigripennis</i>			
	<i>C. theobromae</i>			
<i>maculatus</i>	<i>C. analis</i>	V-shaped, wide at apex	2	Triangular
	<i>C. maculatus</i>		0–2	
	<i>C. subinnotatus</i>		2	
	<i>C. rhodesianus</i>	V-shaped, narrow at apex	6	
	<i>C. imitator</i>	V-shaped, narrow at apex	2	Sharpened
	<i>C. latealbus</i>	V-shaped, wide at apex	2	Triangular
	<i>C. phaseoli</i>	V-shaped, wide at apex	6	Triangular

olinae seeds are relatively thin, larvae inhabit seeds and develop on them. These species are resistant to high humidity and may also spread in wider geographic regions than the species of the first group.

The species of the second group are dangerous pests often having a quarantine status in many countries, as they are

able to reproduce in the storage reserves of pulses and to spread with the products at all stages of development.

References

1. Pests of quarantine phytosanitary importance for the Russian Federation: a handbook / ed. S.A. Dankvert, M.I. Maslov, U.Sh. Magomedov, Y.B. Mord-

kovich. Voronezh: Scientific book, 2009. 449 p.

2. Kamaev I.O., Kuzin A.A. Polyphenism and sexual dimorphism of four-spotted bruchid weevil *Callosobruchus maculatus* // Plant Quarantine. Science and Practice, 2013. № 4. p. 41–44.

3. Lukyanovich F.K., Ter-Minasyan M.E. Weevil beetles (Bruchidae) // Fauna of the USSR. Coleoptera. V. 24, No. 1. M.-L.: Publishing House of the Academy of Sciences of USSR, 1957. 209 p.

4. Saplina G.S., Nikitin L.M. Guidance on the identification of bruchid weevils of genus *Callosobruchus*, found during the inspection of imported regulated products. Moscow, 1985. 18 p.

5. Spirina T.S. Comparative morphology of genitalia of male and female of two forms of four-spotted bruchid weevil *Callosobruchus maculatus* // Entomological review, 1974. V. III. Ed. 4. p. 752–76.

6. A handbook-range of quarantine and other dangerous pests of raw materials, storage products and seed materials / Comp. Y.B. Mordkovich and E.A. Sokolov. M.: Kolos, 1999. 384 p.

7. Anton K.W. The Bruchidae (Coleoptera) of Oman with description of a new genus and two new species // Fauna of Saudi Arabia. 1994. Vol. 14. P. 105–112.

8. Anton K.W. Notes on *Borowiecius* Anton, with the description of a new

Fig. 9. Genitalia of species *Callosobruchus* of the *maculatus* group (a, c from Delobel, Tran, 1993; b from Kingsolver, 1999): a) *C. analis*, b) *C. rhodesianus*, c) *C. subinnotatus*

Рис. 9. Гениталии видов *Callosobruchus* группы *maculatus* (a, c из Delobel, Tran, 1993; b из Kingsolver, 1999): a) *C. analis*, b) *C. rhodesianus*, c) *C. subinnotatus*

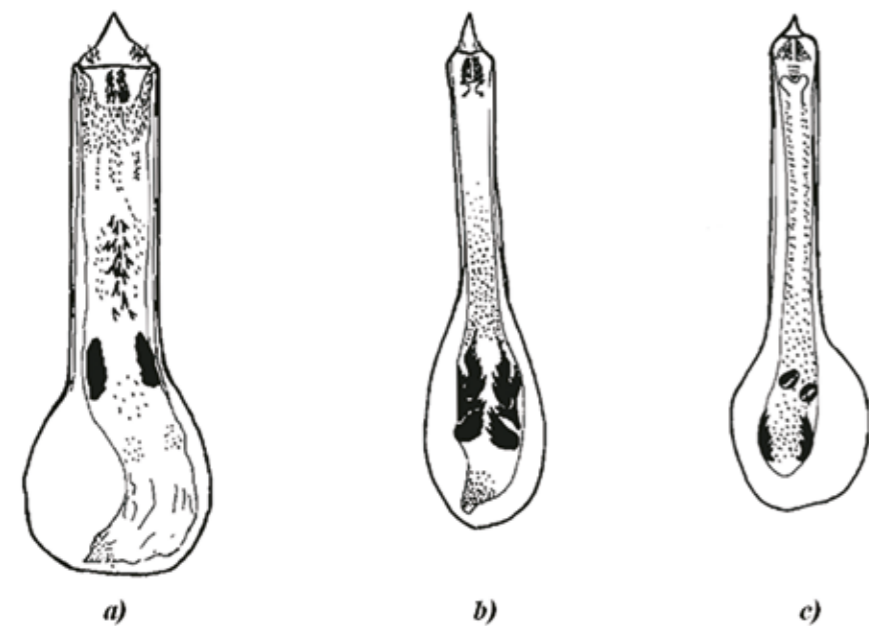


Table 3
Food preferences of species of the *Callosobruchus* (Tuda et al., 2006)

Species developing on vegetating beans	Taxonomy of preferred plant species	Species – pests of storage	Taxonomy of preferred plant species
<i>C. pulcher</i>	Cajaninae, and also vegetating Phaseolinae	<i>C. phaseoli</i>	Phaseolinae
<i>C. theobromae</i>		<i>C. imitator</i>	
<i>C. dolichosi</i>		<i>C. subinnotatus</i>	
<i>C. semigriseus</i>		<i>C. maculatus</i>	
<i>C. utudai</i>		<i>C. rodesianus</i>	
<i>C. latealbus</i>		<i>C. analis</i>	
		<i>C. chinensis</i>	

species (Coleoptera: Bruchidae: Bruchinae) // Genus. 1999. Vol. 10. № 1. P. 65–72.

9. Anton K.W. Five new species of the *Callosobruchus chinensis* group from the Oriental Region and Australia (Coleoptera: Bruchidae: Bruchinae) // Genus. 2000. Vol. 10. № 1. P. 65–72.

10. Arora G.L. Taxonomy of the Bruchidae of North West India. Part I. Adults // Orient Insects. 1977. Vol. 7. P. 1–132.

11. Arora G.L. Taxonomy of the Bruchidae of North West India. Parts II. Larvae // Orient Insects. 1978. Vol. 8. P. 1–30.

12. Borowiec L. A new species *Callosobruchus* Pic from Ceylon (Coleop-

tera, Bruchidae) // Pol. Pismo Ent. 1984. T. 54. P. 303–307.

13. Catalogue of Palaearctic Coleoptera. Vol. 6: Chrysomeloidea / ed. I. Lobl & A. Smetana. Apollo Books, 2010. 924 p.

14. Delobel A., Tran M. Les Coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes. CTA, 1993. 424 p.

15. Haines C.P. Observations on *Callosobruchus analis* (F.) in Indonesia, including a key to storage *Callosobruchus* spp. (Col., Bruchidae) // Journal of Stored Products Research. 1989. Vol. 25. № 1. P. 9–16.

16. Kingsolver J.M. A new species of *Callosobruchus* (Coleoptera: Bruchidae)

from Thailand and China // Entomological News. 1999. Vol. 110. P. 209–213.

17. Kingsolver J.M. Handbook of the Bruchidae of the United States and Canada (Insecta, Coleoptera). 2004. Vol. I & II.

18. Korotyayev B.A. On invasion of an east-asian seed beetle, *Megabruchidius tonkineus* (Pic) (Coleoptera, Bruchidae), developing in Gleditsia Seeds, in the Northwest Caucasus // Entomological Review. 2011. Vol. 91. №. 9. P. 1167–1169.

19. Singh S.R., Jackai L.E.N. Insect pests of cowpea in Africa; their life cycle, economic importance, and potential for control // Cowpea Research, Production, and Utilization. Chichester, 1985. P. 217–231.

20. Tuda M. A new species of *Callosobruchus* (Coleoptera: Bruchidae) feeding on seeds of *Dunbaria* (Fabaceae), a closely related species to a stored-bean pest, *C. chinensis* // Journal Applied Entomology and Zoology. 2003. Vol. 38. № 2. P. 197–201.

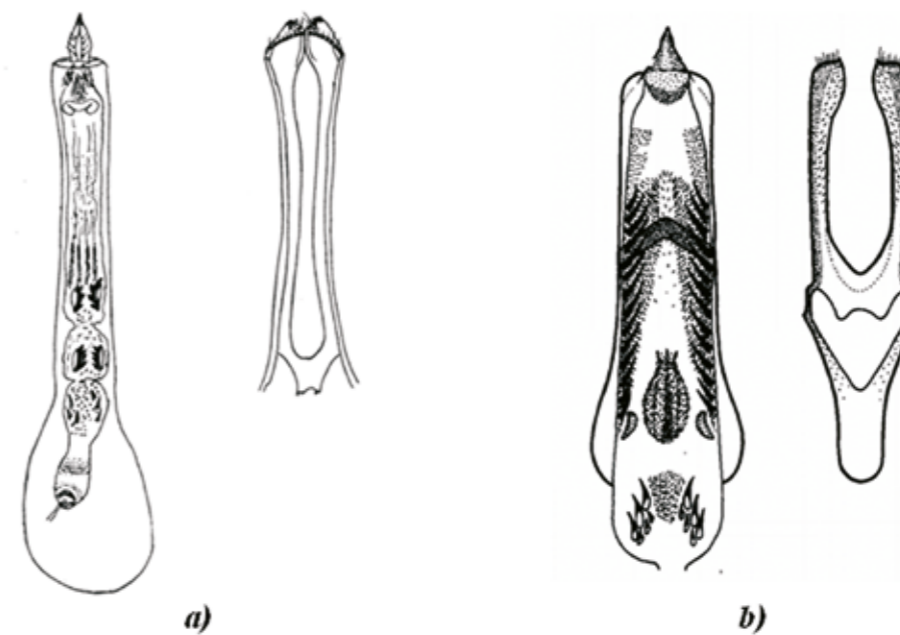
21. Tuda M., Choub L.-Y., Niyomdharm C., Buranapanichpan S., Tateishie Y. Ecological factors associated with pest status in *Callosobruchus* (Coleoptera: Bruchidae): high host specificity of non-pests to Cajaninae (Fabaceae) // Journal of stored products research. 2005. Vol. 41. № 1. P. 31–45.

22. Tuda M., Ronn J., Buranapanichpan S., Wasano N., Arnqvist G. Evolutionary diversification of the bean beetle genus *Callosobruchus* (Coleoptera: Bruchidae): traits associated with stored-product pest status // Molecular Ecology. 2006. Vol. 15. P. 3541–3551.

23. Database Texas A&M University: <https://insects.tamu.edu>. Online access on the 20.10.2014.

Fig. 10. Genitalia of some species of the genus *Callosobruchus* (a from Kingsolver, 2004; b from Anton, 1994): a) *C. phaseoli*, b) *C. omanicus*

Рис. 10. Гениталии некоторых видов рода *Callosobruchus* (a из Kingsolver, 2004; b из Anton, 1994): a) *C. phaseoli*, b) *C. omanicus*



ДИАГНОСТИКА ВИРОИДА ВЕРЕТЕНОВИДНОСТИ КЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ

С.Б. Абросимова, м.н.с. научно-методического отдела
фитопатологии ФГБУ «ВНИИКР»

Ю.Н. Приходько, начальник научно-методического отдела
фитопатологии ФГБУ «ВНИИКР»

Окончание. Начало статьи — в журнале «Карантин растений. Наука и практика» №3 (13).

Визуальная диагностика симптомов

Проявление симптомов на растениях картофеля зависит от сорта, штамма PSTVd, окружающих условий и способа заражения.

Существуют штаммы PSTVd различной агрессивности, симптомы заражения которыми растений картофеля варьируют от слабых до сильных.

При заражении слабым штаммом на растениях иногда не проявляются никакие очевидные симптомы. При заражении агрессивным штаммом интенсивность проявления симптомов часто зависит от условий окружающей среды. Как правило, симптомы наиболее сильно проявляются в жарких условиях. Симптомы могут быть умеренными при начальной степени заражения, но усиливаются в следующих генерациях.

При заражении агрессивными штаммами у растений картофеля развиваются прямостоячие тонкие побеги, верхушечные почки побегов могут пролиферировать, образуя симптомы типа «ведьминых метел». Листья более мелкие, с волнистыми краями и тенденцией загибаться внутрь, их цвет может изменяться до темно-зеленого (рис. 1). У зараженных растений нижние листья заметно короче и прямостоячие по сравнению со здоровыми растениями, нижние листья которых обычно

лежат на земле. Растения заметно отстают в росте (EPPO/CABI, 1997; OEPP/EPPO, 2004).

У зараженных PSTVd растений картофеля сортов Луговской, Невский, Прибрежный и Утенок раньше заканчивался рост стеблей и листьев, быстрее проходили фазы

Основными методами выявления PSTVd являются биотесты на растениях-индикаторах, электрофорез в полиакриламидном геле, гибридизация нуклеиновых кислот и полимеразная цепная реакция.

бутонизации, цветения и, как следствие, отмечалось более раннее отмирание ботвы. У сильно зараженных растений может вообще не образовываться репродуктивных органов. Инфицированные виридом клубни сильнее поражались различными видами гнилей и хуже хранились (Гирсова, 2003).

Клубни зараженных растений картофеля обычно уменьшаются в размере, может происходить их удлинение, деформация, растрескивание, скручивание и они могут приобретать гантелевидную форму (рис. 2-3). На поверхности клубней трещины располагаются параллельно главной оси. Сетчатая кожура клубней становится гладкой, красная — розовой, фиолетовая — бледно-лиловой. Глазки зараженных клубней более многочисленные, с выступающими

«бровями». Вокруг чечевичек часто появляются некротические пятна. Может наблюдаться некротизация тканей клубней. Прорастание зараженных клубней по сравнению со здоровыми растениями происходит медленнее (Яковлева, 2001; EPPO/CABI, 1997; OEPP/EPPO, 2004).

На зараженных растениях томата первыми проявляются симптомы, выражающиеся в задержке роста и искривлении растений, вызванных сокращением длины междоузлий. Верхушечные листья становятся желтыми, красноватыми или фиолетовыми и часто скручиваются. Происходит некроз нижних и средних листьев, а верхние листья хотя и не погибают, но уменьшаются в размерах (рис. 4). Цветение и образование плодов прекращаются. Плоды становятся жесткими, мелкими, темно-зеленого цвета (Mackie et al., 2002).

Зараженные PSTVd растения перца обычно не проявляют интенсивных симптомов; чаще всего развивается лишь деформация листьев на верхушках побегов (Lebas et al., 2005). Инфекция PSTVd на декоративных растениях семейства Пасле-

новые обычно протекает в латентной форме (Verhoeven et al., 2008 a, b).

Визуальная идентификация инфицированных виридом растений и клубней картофеля, как правило, возможна лишь при заражении суровым штаммом и на более поздних стадиях развития болезни. Не все клубни зараженных растений проявляют все или даже любой из вышеперечисленных симптомов. В то же время здоровые клубни ряда сортов картофеля могут приобретать веретеновидную форму. Известны также случаи проявления различных аномалий на клубнях при размножении картофеля в тепличных условиях (Кастальева и др., 1992; Яковлева, 2001; EPPO/CABI, 1997).

Вследствие вышеназванных факторов визуальная диагностика симптомов PSTVd имеет лишь вспомогательное значение, а выявление и идентификация вирида должны осуществляться с использованием лабораторных методов (OEPP/EPPO, 2004).

Согласно действующему стандарту ЕОКЗР РМ 7/33 (1) (OEPP/EPPO, 2004) для выявления PSTVd в качестве отборочных (скрининговых) тестов рекомендуется использовать один из следующих методов: электрофорез в полиакриламидном геле (R-PAGE), гибридизацию нуклеиновых кислот (DIG probe), стандартную ПЦР с электрофоретической

детекцией результатов (RT-PCR) или ПЦР в режиме «реального времени» (TaqMan RT-PCR). При получении положительных результатов выявления вирида необходимо подтвердить одним из перечисленных методов, но не использовавшихся в скрининговом тесте. При использовании в качестве скринингового теста метода R-PAGE, который не является видоспецифичным, в качестве подтверждающего теста необходимо использовать метод ПЦР. При первом выявлении вирида, а также в других особо важных ситуациях (например, при выявлении в импортном семенном материале) рекомендуется проведение секвенирования полученных продуктов амплификации.

Согласно стандарту МСФМ № 27 для выявления и идентификации PSTVd можно использовать три различных варианта:

1. Скрининговый тест методом R-PAGE либо методами гибридизации нуклеиновых кислот или ПЦР с универсальными праймерами и зондами к роду *Posriviroid*, подтверждающий тест методом ПЦР, секвенирование продуктов амплификации.

2. Скрининговый тест методом ПЦР с электрофоретической детекцией результатов или ПЦР в режиме «реального времени» с праймерами и зондами, специфичными к PSTVd,

подтверждающий тест методом ПЦР с другой парой праймеров, секвенирование продуктов амплификации.

3. Проведение биотеста на травянистых растениях-индикаторах, при наличии симптомов — подтверждающий тест методом ПЦР, секвенирование продуктов амплификации (ISPM, 2006).

Таким образом, основными методами выявления PSTVd являются биотесты на растениях-индикаторах, электрофорез в полиакриламидном геле, гибридизация нуклеиновых кислот и полимеразная цепная реакция.

Биотесты на растениях-индикаторах

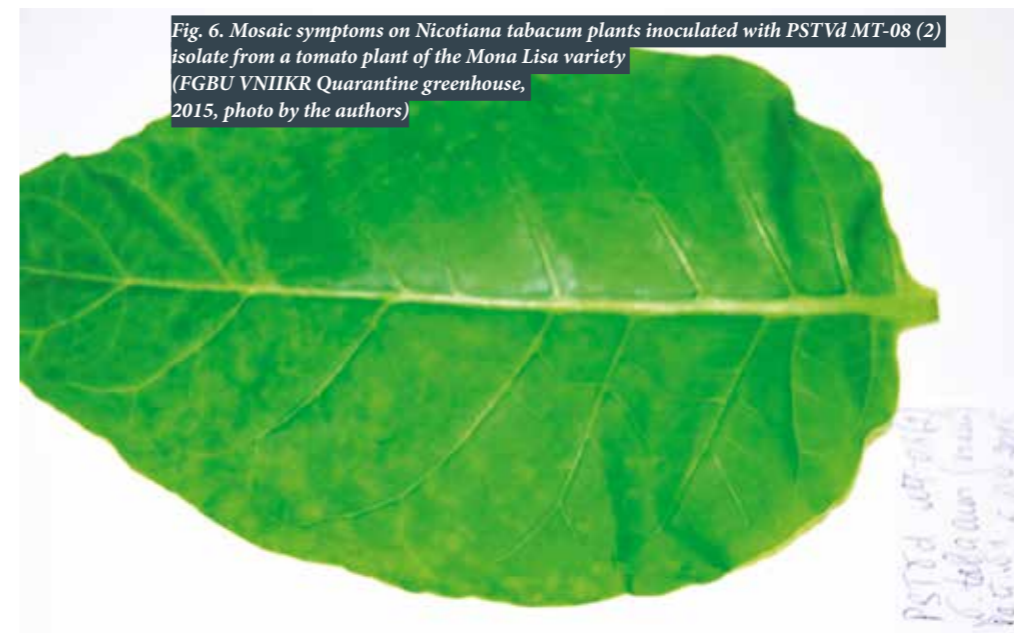
Для проведения биотестов обычно используют здоровые растения томата сорта Rutgers. Рекомендовано использовать также растения томата сортов Allerfrueste-Freiland, Sheyenne (Fernow et al., 1969), Доходный, Перемога (Берлинчик, 1997).

При проведении стандартного теста молодые листья растений томата механически инокулируют соком анализируемых образцов. Растения содержат в теплице при высокой интенсивности света и температуре не ниже 30 °С. Через 2–4 недели на растениях проявляются характерные симптомы: искривление побега в нижней его части, морщинистость и складчатость листьев, карликовость, некрозы жилок. Эти симптомы наблюдаются только в случае заражения суровым штаммом. При инфицировании мягким штаммом больные растения трудно отличить от здоровых.

При проведении биотеста в модификации Yang и Hooker (CIP, 1993) механически инокулированные растения томата содержат при температуре 24–30 °С и непрерывном освещении в пределах 1 клк. Зараженные виридом растения томата проявляют альбинизм с изгибом листьев. В случае сурового штамма дополнительно развивается некроз жилок.

В качестве индикатора PSTVd с местной реакцией рекомендованы также растения скополии (*Scopolia sinensis*) (Можаева и др., 1989), которые содержат в теплице при умеренном освещении в пределах 3–4 клк, температуре 18–23 °С и влажности не ниже 60%. Через 8–14 дней на инокулированных листьях скополии развиваются местные некрозы.

Рис. 6. Симптомы мозаики на растении *Nicotiana tabacum*, инокулированном изолятом PSTVd MT-08 (2) с растения томата сорта Мона Лица (карантинная теплица ФГБУ «ВНИИКР», апрель 2015 г., фото авторов)



Были выявлены растения-индикаторы с коротким инкубационным периодом инфекции PSTVd: петуния, топинамбур, томат сортов Сливовидный и Агата. Разработана технология диагностического процесса на этих индикаторах: температура 24–27 °С, 16-часовой световой день, интенсивность света 5000–7000 лк для получения реакции на 7-10-й день (Краснова, 2000).

Было показано также, что сорт томата Волгоградский 5/95 может быть использован в качестве растения-индикатора, поскольку симптомы поражения на нем появляются раньше, а отставание в росте более выражено, чем на томате сорта Rutgers, традиционно используемом как растительный индикатор PSTVd (Гирсова, 2003).

Нами был успешно осуществлен перенос изолята PSTVd с зараженного растения картофеля на растения томата сортов Мона Лиза и Малиновка, которые проявили типичные симптомы заражения (рис. 5), а с инокулированных растений томата — на растения дурмана (*Datura stramonium*) и нескольких видов *Nicotiana* — *N. tabacum*, *N. tabacum* (сорт Xanthii) и *N. rustica*. Инокулюм готовили в калийно-фосфатном буфере (PBS), pH 7,4.

На инокулированных растениях *D. stramonium* развивались местные некрозы и системный хлороз листьев, а на инокулированных растениях *Nicotiana* — системное пожелтение жилок, межжилковый хлороз и реже — светло-зеленая мозаика (рис. 6–8). Наличие вириода в инокулированных растениях было подтверждено методом ПЦР.

Электрофорез

в полиакриламидном геле

Электрофоретическое выявление низкомолекулярной вириодной РНК в экстракте тотальных нуклеиновых кислот анализируемого образца признано быстрым и технологичным методом диагностики PSTVd (OEPP/EPPO, 2004). Тест проводится в формате двунаправленного (или возвратного) электрофореза в геле полиакриламида. При этом первый электрофорез проводится в нативных условиях, а второй — в обратном направлении в денатурирующих условиях (Schumacher et al., 1986).

Данный метод позволяет выявлять до 800 пг вириодной РНК на

1 г тестируемой растительной ткани (Schumacher et al., 1986), осуществлять выявление вириода в единичных настоящих семенах картофеля (Singh et al., 1988) и диагностировать штаммы вириода (Singh, Boucher, 1987).

Для широкого применения рекомендован упрощенный вариант теста, разработанный М. Schroeder, Н. Weidemann (1989).

Однако РНК PSTVd и других посивироидов практически идентична по молекулярной массе, поэтому данный метод не позволяет проводить их идентификацию до видового уровня и должен сочетаться с подтверждающим анализом методом ПЦР.

Гибридизация нуклеиновых кислот

Метод основан на способности кДНК вириода образовывать гибрид с его нативной молекулой, иммобилизованной на жидкой или твердой мембранах. Образовавшийся комплекс выявляется зондами с радиоактивной, ферментной или флуоресцентной метками (Salazar et al., 1983; Lakshman et al., 1986; Bernardy et al., 1987; McInnes et al., 1989; Sandresse et al., 1990; Khan et al., 2009). Разработан также зонд с использованием в качестве метки диен-платины, позволяющий выявлять 0,3 пг РНК вириода (Дрыгин и др., 1996; Кондакова, Дрыгин, 1999).

Рис. 7. Симптомы пожелтения жилок на растении *Nicotiana tabacum*, инокулированном изолятом PSTVd MT-08 (2) с растения томата сорта Мона Лиза (карантинная теплица ФГБУ «ВНИИКР», апрель 2015 г., фото авторов)



Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Для диагностики PSTVd в настоящее время наиболее широко используются молекулярные методы на основе ПЦР.

В диагностическом протоколе ЕОКЗР РМ 7/33 (1) (EPPO/OEPP 2004) и стандарте МСФМ № 27 (ISPM, 2006) для выявления PSTVd в формате классической ОТ-ПЦР рекомендуется использовать специфические праймеры 3Н1-F/2Н1-R (Shamloul et al., 1997; Weidemann, Buchta, 1998) совместно с праймерами PLANT-UNI/PLANT-UN2 (Kolchinsky et al., 1991) для внутреннего контроля. Данные праймеры позволяют получать продукт величиной 359 п.о., что соответствует полному геному PSTVd.

Праймеры 3Н1-F/2Н1-R прошли международную межлабораторную проверку и широко используются в настоящее время для экспертизы подкарантинной продукции, сертификации семенного материала пасленовых культур и в научных исследованиях. Недостатком данных праймеров является их неполная видоспецифичность, так как наряду с PSTVd они реагируют также с тремя другими посивироидами — Mexican papita viroid (MPVd), Tomato chlorotic dwarf viroid (TCDVd) и Tomato planta Macho viroid (TPMVd) (ISPM, 2006). Для картофеля это не является существенной проблемой, поскольку эту

культуру из посивироидов заражает лишь PSTVd. Однако на томате выявлен целый комплекс посивироидов, что обуславливает необходимость обязательного секвенирования продуктов амплификации.

Праймеры для классической ОТ-ПЦР к отдельным участкам генома или к полному геному PSTVd разработаны также целым рядом других авторов (Querci et al., 1995, 1997; Behjatnia et al., 1996; Nakahara et al., 1998; Weidemann, Buchta, 1998; Di Serio et al., 2007; Khan et al., 2009; Vassilakos et al., 2012 и другие).

В диагностическом протоколе ЕОКЗР РМ 7/33 (1) для диагностики PSTVd рекомендуется использовать также метод ПЦР в режиме «реального времени», разработанный R. Mumford et al. (2000).

В качестве последней разработки следует упомянуть метод среднециклической изотермической амплификации (LAMP), адаптированный для диагностики PSTVd (Lenarcic et al., 2013).

В Российской Федерации в настоящее время имеется надежная база для диагностики PSTVd. Ди-

Для диагностики PSTVd в настоящее время наиболее широко используются молекулярные методы на основе ПЦР.

агностические наборы для выявления PSTVd производят отечественные фирмы АгроДиагностика (в форматах FLASH-ПЦР и real-time ПЦР) и Синтол (в формате real-time ПЦР).

В научно-методическом отделе фитопатологии ФГБУ «ВНИИКР» проведена отработка комплекса вопросов по выявлению PSTVd методами классической ПЦР, FLASH-ПЦР и ПЦР в режиме реального времени.

В работе были использованы изоляты PSTVd, предоставленные сотрудниками ВНИИФ и ВНИИКХ, за что авторы выражают им глубокую признательность.

Отработка диагностики PSTVd методом FLASH-ПЦР

Установлено, что при проведении тестов с набором для FLASH-ПЦР к PSTVd фирмы «АгроДиагностика» эффективная очистка РНК ви-

риода достигается наборами для выделения нуклеиновых кислот отечественных фирм-производителей: «Проба-НК», «Проба-ГС» (АгроДиагностика) и «НК-М-Сорб» (Синтол) при проведении очистки вручную, а также набором «М-Сорб-Туб-Автомат» (Синтол) – на автоматической станции для выделения нуклеиновых кислот Freedom Evo (Тесап, Швейцария).

Установлено также, что для FLASH-ПЦР синтез кДНК вириода может осуществляться набором реагентов для обратной транскрипции фирмы АгроДиагностика, содержащим праймер Random, MMLV RT Kit (Евроген, Россия), содержащим праймеры Oligo (dT)₁₇ и Random dN₁₀ и набором Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit (ThermoScientific, США), содержащим праймеры Oligo (dT)₁₈ и Random (dN)₆.

Набор для FLASH-PCR к PSTVd фирмы АгроДиагностика позволял выявлять все изоляты вириода в свежих и замороженных при -80 °С листьях и клубнях растений картофеля и листьях томата. Ложноположительной реакции с аналогичными органами здоровых растений картофеля и томата не наблюдалось.

С использованием испытуемого набора установлено, что PSTVd локализуется в различных тканях зараженных клубней картофеля: глазках, коже на столонной части клубня, в мякоти, прилегающей к сосудистым кольцам, и в сердцевине клубней. Все эти ткани клубней могут быть использованы для детекции вириода.

Установлена высокая специфичность данного набора, так как не было отмечено перекрестной реакции с близкородственным посивироидом карликовости хризантем (CSVd), а также с различными вирусами, заражающими картофель: PVX, PVS, PVM, PVY, APMoV, APLV, PYDV, PMTV, PAMV, относящимися к родам потексвирус, потексвирус, комовирус, карловирус, тимовирус и фуоровирус.

Чувствительность данного метода является очень высокой. В наших экспериментах выявление вириода достигалось при разведении инфекционного сока листьев томата до 10⁶ степени (т.е. в 100 тысяч), а также при комбинировании 5-10 срезов (весом до 0,5 г) мякоти инфициро-

ванных клубней картофеля с 190-195 аналогичными срезами со здоровых клубней картофеля.

Аналитическая воспроизводимость и повторяемость результатов при проведении тестов набором для FLASH-PCR к PSTVd составляла 100%.

Установлена возможность использования препаратов нуклеиновых кислот, подготовленных для бактериологической экспертизы (шейкирование образцов клубней в буфере, центрифугирование суспензии, выделение нуклеиновых кислот наборами «Проба-ГС» или «М-Сорб-Туб-Автомат»), также и для выявления PSTVd. В нескольких экспериментах выявление вириода было достигнуто без выделения нуклеиновых кислот непосредственно в отцентрифугированной суспензии, однако воспроизводимость этих результатов была недостаточно высокой.

Валидация диагностического набора к PSTVd для ПЦР в режиме реального времени фирмы Синтол

В наборе фирмы Синтол обратная транскрипция совмещена в одной пробирке с полимеразной цепной реакцией, что уменьшает возможность контаминации и сокращает продолжительность тестов.

При проведении валидации не наблюдалось неспецифической реакции используемых в наборе праймеров с различными вирусами, заражающими картофель: PVY, PVS, PVM, PMTV, APMoV, APLV, PYDV, PAMV и PBRSV.

Аналитическая чувствительность данного набора находится в пределах шестого разведения инфекционного сока растений томата и седьмого разведения очищенной РНК вириода.

Аналитическая воспроизводимость и аналитическая повторяемость результатов при использовании испытуемого набора составили 100%.

Установлено, что для проведения тестов с данным комплектом реагентов очистку РНК вириода возможно проводить с различными наборами для выделения нуклеиновых кислот: «Проба-НК», «Проба-ГС» (АгроДиагностика) «НК-М-Сорб», «М-Сорб-Туб-Автомат» (Синтол), «RNAqueous Kit» (Life Technologies).

Набор для real-time-PCR фирмы Синтол позволяет выявлять PSTVd в свежих и замороженных при -80 °C листьях и клубнях растений картофеля, листьях растений томата, *Nicotiana tabacum* и *Datura stramonium*. Ложноположительной реакции с аналогичными органами здоровых растений не наблюдалось. Набор позволяет также выявлять вирион в образцах сока, нанесенных на мембраны для архивирования нуклеиновых кислот.

Отработка диагностики PSTVd методом классической ПЦР с праймерами 3Н1-F/2Н1-R (A. Shamloul et al., 1997) и PSTVd-1P/PSTVd-1M (K. Nakahara et al., 1998)

Проведена всесторонняя отработка ПЦР с праймерами 3Н1-F/2Н1-R, рекомендуемыми диагностическими протоколами ЕОКЗР и МСФМ.

По результатам отработки выделения РНК PSTVd констатировано преимущество наборов для выделения нуклеиновых кислот «НК-М-Сорб» фирмы Синтол и «Проба-НК» фирмы АгроДиагностика по сравнению с набором «RNAqueous Kit» фирмы Life Technologies (США). Это было установлено при последующей ОТ-ПЦР выделенной РНК с наборами для амплификации «Mas^{DR}TaqMix-2025» и «Tersus PCR Kit» (Евроген).

В предварительных экспериментах было установлено, что кДНК, синтезированная с использованием комплекта реагентов для обратной транскрипции фирмы АгроДиагностика, не всегда пригодна для последующей ПЦР с праймерами 3Н1-F/2Н1-R.

В последующих экспериментах кДНК изолятов PSTVd синтезировали набором реагентов для обратной транскрипции MMLV RT Kit (Евроген, Россия). Синтез кДНК проводили с универсальными праймерами для обратной транскрипции Oligo (dT)₁₆ и Random (dN)₆, а также со специфическим антисмысловым праймером 2Н1-R. Последующую амплификацию проводили с шестью комплектами реагентов для ПЦР фирм Евроген и Диалат (Россия).

Установлено, что синтез кДНК вириона возможен со всеми тремя вышеназванными праймерами, но

качество продуктов амплификации зависит от используемых комплектов реагентов для ПЦР.

Наиболее качественные специфические продукты амплификации были получены с комплектами реагентов Screen Mix HS (Евроген), Tersus PCR Kit (Евроген) и Mas^{DR}TaqMix-2025 (Диалат). При этом в данных вариантах использование для обратной транскрипции праймеров Oligo (dT)₁₆ и Random (dN)₆ имело однозначное преимущество по сравнению с праймером 2Н1-R.

При использовании комплектов реагентов Screen Mix (Евроген) и Encyclo PCR Kit (Евроген) наряду с продуктами планируемой величины в гелях наблюдались многочисленные неспецифические полосы и шмеры. При этом в варианте с набором Screen Mix неспецифических продуктов было меньше при использовании кДНК, синтезированной с праймером Oligo (dT)₁₆, а в варианте с набором Encyclo PCR Kit — с праймером Random (dN)₆.

При проведении ПЦР с набором MagMIX-2025 (Диалат) значительно более качественные специфические продукты амплификации были получены с кДНК, синтезированной с праймером Oligo (dT)₁₆. Неспецифические продукты амплификации продуцировались также при проведении ПЦР с наборами реагентов Dream Taq Green PCR Master Mix (ThermoScientific) и Long Range 2 Step RT-PCR Kit (Qiagen, Нидерланды) с использованием кДНК, синтезированной комплектом реагентов для обратной транскрипции Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit (ThermoScientific). Констатировано, что для данных наборов реагентов необходимо оптимизировать термоциклические режимы амплификации и прежде всего — температуру отжига праймеров.

Установлено существенное влияние количества циклов амплификации на эффективность выявления PSTVd и качество амплифицируемых специфических продуктов. Для большинства испытанных наборов реагентов при 30 циклах амплификации концентрация специфического продукта была очень низкой вне зависимости от способа синтеза кДНК. Наиболее качественные специфические продукты были получены

при проведении 35 циклов амплификации. При повышении количества циклов до 40 значительно возрастало количество неспецифических продуктов и шмеров.

Выявление PSTVd в образцах сока, нанесенных на мембрану для архивирования нуклеиновых кислот, было достигнуто при комбинировании набора для обратной транскрипции Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit фирмы ThermoScientific (содержащего смесь праймеров для ОТ Oligo (dT)₁₈ и Random (dN)₆) и набора реагентов для ПЦР Mas^{DR}TaqMix-2025 (Диалат).

Установлено, что аналитическая чувствительность классической ПЦР с праймерами 3Н1-F/2Н1-R находится в пределах пятого разведения инфекционного сока растений томата (т.е. в 10 тысяч) и на один порядок уступает таковой у метода FLASH-ПЦР.

При использовании комплектов реагентов Screen Mix HS (Евроген), Tersus PCR Kit (Евроген) и Mas^{DR}TaqMix-2025 (Диалат) аналитическая воспроизводимость и повторяемость результатов ПЦР с праймерами 3Н1-F/2Н1-R составили 100%.

В международных стандартах содержится требование о необходимости использования в скрининговых и подтверждающих тестах различных пар праймеров. В связи с этим наряду с праймерами 3Н1-F/2Н1-R нами была отработана классическая ПЦР со специфическими праймерами PPSTVd-1P/PPSTVd-1M (Nakahara et al., 1998), которые амплифицируют продукт величиной 300 п.о.

В экспериментах с этими праймерами реакцию обратной транскрипции проводили с наборами MMLV RT Kit (Евроген), First Strand cDNA Synthesis Kit (ThermoScientific), Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit (ThermoScientific), Sensiscript RT Kit (Qiagen) и комплектом реагентов для обратной транскрипции фирмы АгроДиагностика (Россия).

При постановке реакции обратной транскрипции испытывали универсальные праймеры: Oligo (dT)₁₆, Oligo (dT)₁₇, Oligo (dT)₁₈, Random (dN)₆ и Random (dN)₁₀.

Последующую амплификацию проводили с комплектами реагентов Tersus PCR Kit, Screen Mix HS,

Encyclo PCR Kit (Евроген), Long Range 2 Step RT-PCR Kit (Qiagen), Dream Taq Green PCR Master Mix (ThermoScientific), Mas^{DD}TaqMix-2025 и MasMix-2025 (Диалат).

При амплификации кДНК изолятов PSTVd, синтезированной набором реагентов MMLV RT Kit, наиболее качественные специфические продукты получены с комплектами реагентов Tersus PCR Kit и MasMix-2025. Несколько уступал в этом аспекте комплект реагентов Mas^{DD}TaqMix-2025. При использовании комплекта реагентов Screen Mix HS наблюдалось образование неспецифических продуктов. Использование при проведении обратной транскрипции праймера Oligo (dT)₁₆ имело некоторое преимущество в плане получения более чистых продуктов амплификации по сравнению с праймером Random (dN)₆. Однако при использовании праймера Random dN₆ были получены визуально более концентрированные специфические полосы.

Специфические продукты планируемой величины были получены также с комплектом реагентов Long Range 2 Step RT-PCR Kit (Qiagen) при использовании кДНК, синтезированной набором реагентов фирмы АгроДиагностика.

При проведении ПЦР с комплектами реагентов Encyclo PCR Kit (Евроген) и Dream Taq Green PCR (ThermoScientific) наряду со специфическими продуктами наблюдалось образование неспецифических продуктов и шмеров. Для данных наборов реагентов констатирована необходимость детальной оптимизации термоциклических режимов.

Для проведения ПЦР с набором реагентов Tersus PCR Kit была испытана кДНК, синтезированная пятью комплектами реагентов для обратной транскрипции MMLV RT Kit, Sensiscript RT Kit, First Strand cDNA Synthesis Kit — с праймером Random dN₆ фирмы АгроДиагностика — с праймером Random (химическая формула праймера фирмой-производителем не разглашается) и Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit, содержащим в составе реакционной смеси праймеры Oligo (dT)₁₈ и Random (dN)₆.

По результатам эксперимента констатирована возможность син-

теза кДНК изолятов PSTVd всеми испытанными комплектами реагентов для обратной транскрипции. Наиболее качественные специфические продукты амплификации получены с кДНК, синтезированной наборами MMLV RT Kit, и Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit. Визуально наименее концентрированные специфические продукты получены для обратной транскрипции фирмы АгроДиагностика. Промежуточное положение по качеству продуктов амплификации имели варианты с кДНК, синтезированной наборами Sensiscript RT Kit и First Strand cDNA Synthesis Kit.

Были проведены также эксперименты по оптимизации синтеза кДНК PSTVd за счет использования универсальных праймеров Oligo (dT)₁₇, Oligo (dT)₁₈, Random (dN)₆ и Random (dN)₁₀. В эксперименте были использованы: РНК изолятов PSTVd, выделенная набором «RNAqueous Kit» (Life Technologies); набор реагентов для обратной транскрипции MMLV RT Kit (Евроген) и набор реагентов для ПЦР «Tersus PCR Kit» (Евроген).

Установлено, что синтез кДНК PSTVd возможен со всеми испытанными универсальными праймерами. Однако наиболее качественные специфические продукты получены с набором Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit, содержащим смесь праймером Oligo (dT)₁₆ и Random (dN)₆. Использование праймеров Random (dN)₆ и Random (dN)₁₀ имело некоторое преимущество в аспекте получения более качественных специфических продуктов, по сравнению с использованием праймеров Oligo (dT)₁₇ и Oligo (dT)₁₈.

Установлено также, что для ПЦР с праймерами PPSTV-1P/PPSTV-1M выделение РНК изолятов PSTVd может эффективно осуществляться с наборами реагентов для экстракции нуклеиновых кислот «Проба-НК» (АгроДиагностика), «НК-М-Сорб» (Синтол) и «RNAqueous Kit» (Life Technologies).

Аналитическая чувствительность классической ПЦР с праймерами PPSTV-1P/PPSTV-1M находится в пределах четвертого разведения инфекционного сока растений томата и несколько уступает в этом аспекте ПЦР с праймерами 3Н1-F/2Н1-R.

При использовании комплектов реагентов «Tersus PCR Kit» (Евроген) и Mas^{DR}TaqMix-2025 (Диалат) аналитическая воспроизводимость и повторяемость результатов ПЦР с праймерами PPSTV-1P/PPSTV-1M составили 100%.

По результатам проведенных экспериментов можно сделать вывод, что праймеры PPSTV-1P/PPSTV-1M могут быть эффективно использованы для диагностики PSTVd. Для проведения ПЦР с данными праймерами возможно применение различных комплектов реагентов для обратной транскрипции и амплификации, а также препаратов РНК, выделенной с использованием различных методов.

Валидность продуктов амплификации, полученных в тестах с праймерами PPSTV-1P/PPSTV-1M и 3Н1-F/2Н1-R, была подтверждена их секвенированием.

Литература

1. Берлинчик Е.Е. Диагностика вириона веретеновидности клубней картофеля визуальным и индикаторными методами // Весці Акад. навук Беларусі, 1997. № 3. С. 50–52.
2. Гирсова Н.В. Вирион веретеновидности клубней картофеля (Диагностика, сохранение инфекционности и особенности передачи патогена) // Автореферат дисс... кандидата биол. наук. Большие Вяземы, 2003. 24 с.
3. Дрыгин Ю.Ф., Мусин С.М., Кондакова О.А. Молекулярная диагностика зараженности оздоровленных сортообразцов картофеля вирион веретеновидности клубней // Доклады Россельхозакадемии, 1996. № 6. С. 24–25.
4. Кастальева Т.Б., Можаяева К.А., Писецкая Н.Ф., Романова С.А., Трофимец Л.Н. Вирион веретеновидности клубней и оздоровление картофеля // Вестник РАСХН, 1992. № 3. С. 3–5.
5. Кастальева Т.Б., Гирсова К.А., Можаяева К.А., Овенс Р.А. Особенности российских изолятов вириона веретеновидности клубней картофеля (ВВКК) // Интегрированная защита растения: стратегия и тактика/материалы междунар. научно-практ. конф., посвященной 40-летию РУП «Институт защиты растений». Минск, 5–8 июля 2011 г. С. 523–526.

6. Кондакова О.А., Дрыгин Ю.Ф. Диагностика виroidного заболевания картофеля зондами (диен)Рт-ДНК // Биотехнология, 1999. № 4. С. 83–91.
7. Краснова М.В. Виroid веретеновидности клубней картофеля в Северо-Западном регионе Российской Федерации // Автореферат дисс... кандидата биол. наук. Санкт-Петербург, 2000. 23 с.
8. Леонтьева Ю.А. Веретеновидность клубней (готика) — одно из основных вирусных заболеваний картофеля в Поволжье // Автореферат дисс... доктора биол. наук. Пушкин, 1971. 43 с.
9. Можаяева К.А., Мелдраис Ю.А., Друка А.Я., Кастальева Т.Б., Лайн И.Е., Васильева Т.Я. Сравнительное изучение различных диагностических методов для виroidа веретеновидности клубней картофеля // Научные Доклады Высшей Школы. Биологические Науки, 1989. № 7. С. 104–110.
10. Можаяева К.А., Васильева Т.Я., Кастальева Т.Б. Распространение виroidа веретеновидности клубней при получении безвирусного картофеля // Защита растений в условиях реформирования агропромышленного комплекса: экономика, эффективность, экологичность / Тезисы докладов Всероссийского съезда по защите растений. Санкт-Петербург, 1995. С. 67–68.
11. Можаяева К.А., Васильева Т.Я., Кастальева Т.Б. Заражение томатов виroidом веретеновидности // Вестник РАСХН, 1996. № 3. С. 57–58.
12. Романова С.А., Можаяева К.А., Рейфман В.Г., Леднева В.А. Виroid веретеновидности клубней картофеля на Дальнем Востоке // Проблемы фитовирусологии на Дальнем Востоке. 1996. С. 41–47.
13. Терещенко О.И. Нова хвороба картоплі // Сад та город. 1937. № 10. С. 13–17.
14. Яковлева Г.А. Виroid веретеновидности клубней картофеля. Тестирование коллекции сортов и диких видов картофеля, депонируемой *in vitro* в БелНИИ картофелеводства // Известия Академии аграрных наук Республики Беларусь, 2001. № 1. С. 45–49.
15. Behjatnia S.A., Dry I.B., Krake L.R., Conde B.D., Connelly M.I., Randles J.W., Rezaian M.A. (1996) New potato spindle tuber viroid and tomato leaf curl geminiviroid strains from a wild *Solanum* sp. // Phytopathology. Vol. 86. P. 880–886.
16. Bernardy R.G., Jacoli G.G., Ragetli H.W. (1987) Rapid detection of potato spindle tuber viroid by dot blot hybridization // J. Phytopathol. Vol. 118. P. 171–180.
17. Blotskaya Z.V., Berlinchik E.E. (1998) Occurrence and harmfulness of Potato spindle tuber viroid (PSTVd) in the Republic of Belarus // Arch. Phytopath. Pflanz. Vol. 31. P. 453–457.
18. Candresse T., Macquaire G., Brault V., Monsion M., Dunez J. (1990) ³²P- and biotin-labelled *in vitro* transcribed cRNA probes for the detection of potato spindle tuber viroid and chrysanthemum stunt viroid // Research in Virology. Vol. 141. P. 97–107.
19. Catley A. (1987) Outbreaks and new records. Australia: eradication of potato spindle tuber viroid // FAO Plant Prot. Bull. Vol. 35. P. 32–33.
20. CIP (1993) Detection PSTVd / Basic techniques in plant virology. International Potato Center (CIP). 1993. 19 s.
21. Di Serio F. (2007) Identification and characterization of potato spindle tuber viroid infecting *Solanum jasminoides* and *S. rantonetti* in Italy // Journal of Plant Pathology. Vol. 89. P. 297–300.
22. Diener T.O., Raimer W.B. (1967) Potato spindle tuber virus. A plant virus with properties of a free nucleic acid // Science. Vol. 158. P. 847–895.
23. EPP/CABI (1997) Potato spindle tuber viroid // In: Quarantine Pests for Europe, 2nd edn., CAB International, Wallingford (GB).
24. Fernow K.H., Peterson L.C., Plaisted R.L. (1969) The tomato test for eliminating spindle tuber from potato planting stock // American Potato J. Vol. 46. P. 424–429.
25. Fernow K.H., Peterson L.C., Plaisted R.L. (1970) Spindle tuber virus in seeds and pollen of infected plants // American Potato Journal. Vol. 47. P. 75–80.
26. Grasmick M.E., Slack S.A. (2011) Effect of potato spindle tuber viroid on sexual reproduction and viroid transmission in true potato seed Canadian Journal of Botany 01/2011; 64 (2): 336–340.
27. Herold T., Haas B., Singh R.P., Boucher A., Sanger H.L. (1992) Sequence analysis of five new field isolates demonstrates that the chain length of potato spindle tuber viroid (PSTVd) is not strictly conserved but is variable as in other viroids // Plant Molecular Biology. Vol. 19. P. 329–333.
28. ISPM (2006) Potato spindle tuber viroid. International Standard for Phytosanitary Measures. 27 sw.
29. Khan M.S., Timmermann C., Hoque M.I., Sarker R.H., Muhlbach H.P. (2009) Detection of potato spindle tuber viroid (PSTVd) in minute amounts of potato (*Solanum tuberosum* L.) leaf tissue by hybridization techniques and, together with potato viruses, by multiplex RT-PCR // J. Plant Dis. and Protection. Vol. 116. P. 97–105.
30. Kolchinsky A., Kolesnikova M., Ananiev E. (1991) Portraying of plant genomes using polymerase chain reaction amplification of ribosomal 5S genes // Genome. Vol. 34. P. 1028–1031.
31. Lakshman D.K., Hiruki C., Wu X.H., Leung W.C. (1986) Use of ³²P RNA probes for the dot-hybridization detection of potato spindle tuber viroid // J. Virol. Methods. Vol. 14. P. 309–319.
32. Lebas B.S., Clover G.R., Ochoa-Corona F.M., Elliott D.R., Tang Z., Alexander B.J. (2005) Distribution of potato spindle tuber viroid in New Zealand glasshouse crops of capsicum and tomato // Australian Plant Pathology. Vol. 34. P. 129–133.
33. Lenarcic R., Morisset D., Mehle N., Ravnkar M. (2013) Fast real-time detection of Potato spindle tuber viroid by RT-LAMP Plant Pathology 62, 1147–1156.
34. Lykke Nielsen S., Enkegaard A., Nicolaisen M., Kryger P., Virsvcek M. Marn, Mavrič Plevsko I., Kahrer A., Gottsberger R. (2012) No transmission of Potato spindle tuber viroid shown in experiments with thrips (*Frankliniella occidentalis*, *Thrips tabaci*), honey bees (*Apis mellifera*) and bumblebees (*Bombus terrestris*) European Journal of Plant Pathology 02/2012; 133 (3): 505–509.
35. Mackie A.E., McKirdy S.J., Rodoni B. & Kumar S. (2002) Potato spindle tuber viroid eradicated in Western Australia. Australasian Plant Pathology, 31: 311–312.
36. McInnes J.L., Habili N., Symons R.H. (1989) Nonradioactive, photobiotin-labelled DNA probes for routine diagnosis of viroids in plant extracts // J. Virol. Methods. Vol. 23. P. 299–312.
37. Mertelik J., Kloudova K., Cervená G., Necekalova J., Mikulkova H., Levkanicova Z. (2009) First report of Potato spindle tuber viroid (PSTVd) in *Brugmansia* spp., *Solanum jasminoides*, *Solanum muricatum* and *Petunia* spp. in the Czech Republic // New Disease Reports. Vol. 19.
38. Morris T.J., Smith E.M. (1977) Potato spindle tuber disease: procedures for the detection of viroid RNA and certification of disease-free potato tubers // Phytopathology. Vol. 67. P. 145–150.
39. Mumford R.A., Walsh K., Boonham N. (2000) A comparison of molecular methods for the routine detection of viroids // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. Vol. 30. P. 431–435.
40. Nakahara K., Hataya T., Hayashi Y., Sugimoto T., Kimura I., Shikata E. (1998) A mixture of synthetic oligonucleotide probes labeled with biotin for the sensitive detection of potato spindle tuber viroid // J. Virol. Methods. Vol. 71. P. 219–227.
41. OEPP/EPPO (2004) Standard PM 7/33 (1) Potato spindle tuber pospiviroid. Diagnostic protocol for regulated pests // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. 2004. Vol. 41. P. 394–399.
42. OEPP/EPPO (2011) Standard PM 9/13 (1) Potato spindle tuber viroid on potato. National regulatory control systems // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. 2011. Vol. 34. P. 394–399.
43. Puchta H., Herold T., Verhoeven K., Roenhorst A., Ramm K., Schmidt-Puchta W., Sanger H.L. (1990) A new strain of potato spindle tuber viroid (PSTVd-N) exhibits major sequence differences as compared to all other strains sequenced so far // Plant Molecular Biology. Vol. 15. P. 509–511.
44. Querci M., Owens R.A., Vargas C., Salazar L.F. (1995) Detection of Potato spindle tuber viroid in avocado growing in Peru // Plant Disease. Vol. 79. P. 196–202.
45. Querci M., Owens R.A., Bartolini I., Lazarte V., Salazar L.F. (1997) Evidence for heterologous encapsidation of potato spindle tuber viroid in particles of potato leafroll virus // Journal of General Virology. Vol. 78. P. 1207–1211.
46. Salazar L.F., Owens R.A., Smith D.R., Diener T.O. (1983) Detection of potato spindle tuber viroid by nucleic acid spot hybridization with tuber sprouts and true potato seed // American Potato J. Vol. 60. P. 587–597.
47. Salazar L.F., Querci M., Bartolini I., Lazarte V. (1995) Aphid transmission of potato spindle tuber viroid assisted by potato leafroll virus // Fito-patologia. Vol. 30. P. 56–58.
48. Schroeder M., Weidemann H.L. (1989) Simplified application of return gel electrophoresis for the routine detection of potato spindle tuber viroid // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. Vol. 19. P. 661–665.
49. Schumacher J., Meyer N., Riesner D., Weidemann H.L. (1986) Diagnostic procedure for detection of viroids and viruses with circular RNAs by return-gel electrophoresis // J. Phytopath. Vol. 115. P. 332–343.
50. Shamloul A.M., Hadidi A., Zhu S.F., Singh R.P., Sagredo B. (1997) Sensitive detection of potato spindle tuber viroid using RT-PCR and identification of a viroid variant naturally infecting pepino plants // Can. J. Plant Pathology. Vol. 19. P. 89–96.
51. Singh R.P. (1970) Seed transmission of potato spindle tuber virus in tomato and potato // Am. Potato J. Vol. 47. P. 225–242.
52. Singh R.P. (1973) Experimental host range of the potato spindle tuber «virus» // American Potato J. Vol. 50. P. 111–123.
53. Singh R.P. (1984) *Solanum berthaultii*, a sensitive host for indexing potato spindle tuber viroid from dormant tubers // Potato Research. Vol. 27. P. 163–172.
54. Singh R.P., Finnie R.E. (1977) Stability of potato spindle tuber viroid in freeze-dried leaf powder // Phytopathology. Vol. 67. P. 283–286.
55. Singh R.P., Boucher A. (1987) Electrophoretic separation of severe from mild strains of potato spindle tuber viroid // Phytopathology. Vol. 77. P. 1588–1591.
56. Singh R.P., Crowley C.F. (1985) Successful management of potato spindle tuber viroid in seed potato crops // Can. Plant Dis. Surv. Vol. 65. P. 9–10.
57. Singh R.P., Boucher A., Seabrook J.E. (1988) Detection of the mild strains of potato spindle tuber viroid from single true potato seed by return electrophoresis // Phytopathology. Vol. 78. P. 663–667.
58. Singh R.P., Boucher A., Wang R.G. (1991) Detection, distribution and long-term persistence of Potato spindle tuber viroid in true potato seed from Heilongjiang, China // Am. Potato J. Vol. 68. P. 65–74.
59. Singh R.P., Boucher A., Somerville T.H. (1992) Detection of potato spindle tuber viroid in the pollen and various parts of potato plant pollinated with viroid-infected pollen // Plant Disease. Vol. 6. P. 951–953.
60. Vassilakos N., Kektsidou O., Papaeythimiou M., Varveri C. (2012) Comparison of direct-RT-PCR and dot-blot hybridization for the detection of Potato spindle tuber viroid in natural host plant species // Eur. J. Plant Pathol. Vol. 134. P. 859–864.
61. Verhoeven J.T., Roenhorst J.W. (1995) Virological risks accompanying the increased interest in pepino (*Solanum muricatum*). Proceedings of the 8th Conference on Virus Diseases of Vegetables, Prague (CZ). P. 109–112.
62. Verhoeven J.T., Jansen C.C., Roenhorst J.W. (2008a) First report of pospiviroids infecting ornamentals in the Netherlands: Citrus exocortis viroid in *Verbena* sp., Potato spindle tuber viroid in *Brugmansia suaveolens* and *Solanum jasminoides*, and Tomato apical stunt viroid in *Cestrum* sp. / Plant Pathology. Vol. 57. P. 399–400.
63. Verhoeven J.T., Jansen C.C., Roenhorst J.W. (2008b) *Streptosolen jamesonii* 'Yellow', a new host plant of Potato spindle tuber viroid // Plant Pathology. Vol. 57. P. 399.
64. Verhoeven J.T., Botermans M., Roenhorst J.W., Westerhof J., Meekes E.T. (2009) First report of Potato spindle tuber viroid in Cape gooseberry (*Physalis peruviana*) from Turkey and Germany // Plant Disease. Vol. 93. P. 316.
65. Verhoeven J.T., Jansen C.C., Botermans M., Roenhorst J.W. (2010a) Epidemiological evidence that vegetatively-propagated, solanaceous plant species act as sources of Potato spindle tuber viroid inoculum for tomato // Plant Pathology. Vol. 59. P. 3–12.
66. Weidemann H.L., Buchta U. (1998) A simple and rapid method for the detection of Potato spindle tuber viroid (PSTVd) by RT-PCR // Potato Research. Vol. 41. P. 1–8.
67. Werner-Solska J. (1983) The transmission of Potato spindle tuber viroid by insects – in the light of the literature // Biuletyn Instytutu ziemniaka. Vol. 29. P. 57–62.

DETECTION AND IDENTIFICATION OF POTATO SPINDLE TUBER VIROID

Svetlana B. Abrosimova, Junior Researcher at FGBU VNIKR's
Plant Pathology Research and Methodology Department

Yury N. Prikhodko, Chief of FGBU VNIKR's
Plant Pathology Research and Methodology Department

End of the article. Beginning of the article in "Plant Health. Research and Practice" Magazine Issue №3 (13).

Visual detection and identification of symptoms

In potato, symptoms of PSTVd depend on strain, cultivar, environment and mode of infection.

PSTVd strains can cause mild or severe symptoms based on their aggressiveness.

Plants infected with a mild strain sometimes show no visible symptoms. Manifestation of symptoms of severe strain infection often depends on environmental conditions. The symptoms are more severe at high temperatures and may start as mild and become more severe in the next generations.

Severely infected potato plants have thin upright shoots. Axillary buds may proliferate to give symptoms similar to those of witches' broom. Leaves are smaller with wavy edges and the tendency to bend inward. Their color may change to dark green (Fig. 1). In infected plants, lower leaves are much shorter and more erect compared to those of healthy plants lower leaves of which are usually on the ground. Plants are markedly stunted (EPPO/CABI, 1997; OEPP/EPPO, 2004).

In PSTVd-infected plants of the potato varieties Lugovskoy Nevsky, Pribrezhy and Utionok, stem and leaf growth ended earlier, budding and flowering occurred faster and as a consequence earlier top dying was observed. In heavily infested plants, reproductive organs may not form. Viroid-infected

tubers were more prone to various rots and did not store well (Girsova, 2003).

Tubers of infected potato plants generally decrease in size and may be elongated, deformed, cracked, curled and dumbbell-shaped (Fig. 2-3). On the tuber surface, cracks are arranged in parallel with the main axis. Reticulate tuber becomes smooth, and turns from red to pink, purple to light-purple. Eyes in infected tubers are more abundant with protruding "eyebrows". Necrotic spots often appear around lenticels. Tuber tissue necrosis may occur. Infected tubers germinate slower than healthy tubers (Yakovleva, 2001; EPPO/CABI, 1997; OEPP/EPPO, 2004).

Stunted growth and distortion of plants caused by shorter internodes are the first symptoms in tomato plants. Apical leaves turn yellow, reddish or purple and often roll up. Necrosis of lower and middle leaves is observed. Top leaves do not die, but decrease in size (Fig. 4). Flowering and fruit formation stop. Fruits are hard, small, dark green (Mackie et al., 2002).

PSTVd-infected pepper plants, as a rule, do not exhibit severe symptoms although leaf deformation at top shoots is usually present (Lebas et al., 2005). PSTVd infection in solanaceous ornamentals is generally latent (Verhoeven et al., 2008 a, b).

Visual identification of viroid in infected plants and tubers is usually possible only in case of severe strains and

at later stages of the disease. Not all infected tubers exhibit all or even any of the abovementioned symptoms. On the other hand, healthy tubers of a number of potato varieties may become spindle-shaped. There are also instances of various tuber anomalies in greenhouse grown potato (Kastaleva et al., 1992; Yakovleva, 2001; EPPO/CABI, 1997).

Taking into consideration the abovementioned factors, visual diagnostics of PSTVd symptoms is only of secondary importance, and detection and identification of the viroid should be carried out using laboratory analysis (OEPP/EPPO, 2004).

According to the current EPPO standard PM 7/33 (1) (OEPP/EPPO, 2004), the following methods are recommended as primary (screening) tests for PSTVd detection: polyacrylamide gel electrophoresis (R-PAGE), nucleic acid hybridization (DIG probe), conventional PCR with electrophoretic results detection (RT-PCR) or real time PCR (TaqMan RT-PCR). If the test gives a positive result for the viroid, confirmation by one of the following methods not used as primary tests should be performed. When R-PAGE is used as a primary method which is not species-specific, PCR should be used as a confirmatory test. When the viroid is detected for the first time and in other critical situations (e.g., detection in imported seed material), sequencing of the amplification products is recommended.

According to ISPM 27, three different options are available for PSTVd detection and identification:

1. Screening test by R-PAGE or nucleic acid hybridization or PCR with universal primers and probes for the genus Pospiviroid; a confirmatory test using PCR, sequencing of amplification products.

2. Screening test by PCR with electrophoretic results detection or real time PCR with PSTVd specific primers and probes; confirmation test by PCR with another pair of primers, sequencing of amplification products.

3. Bioassay of herbaceous indicator-plants; if the symptoms are present — a confirmatory test using PCR, sequencing of the amplification products (ISPM, 2006).

Thus, the main methods of PSTVd detection are bioassays of indicator plants, polyacrylamide gel electrophoresis, nucleic acid hybridization and polymerase chain reaction.

Bioassays of indicator plants

Usually, healthy tomato plants of the Rutgers variety are used in bioassays. The Allerfruheste-Freiland, Sheyenne (Fernow et al., 1969), Dokhodny, Peremoga tomato varieties (Berlinchik, 1997) are also recommended (Berlinchik, 1997).

When carrying out a conventional test, young leaves of tomato plants are mechanically inoculated with the sap of test samples. Plants are maintained in a greenhouse under intensive lighting and at the minimum temperature of 30°C. In 2-4 weeks, the plants exhibit the characteristic symptoms: shoot deformation at its lower portion, wrinkling and folding of leaves, dwarfism, and vein necrosis. These symptoms are observed only in the case of infection with a severe strain. Plants infected with a mild strain are hardly distinguishable from healthy plants.

When conducting the modified Yang et Hooker (CIP, 1993) bioassay, mechanically inoculated tomato plants are kept at 24-30 °C with continuous lighting of about 1 klx. Infected tomato plants exhibit albinism with bended leaves. In the case of severe strain infection, vein necrosis also develops.

As an indicator of local reaction to PSTVd plants of scopolia (*Scopolia sinensis*) are also recommended (Mozhaeva et al., 1989). These are maintained in a greenhouse under moderate lighting

within 3-4 klx at 18-23 °C and minimum humidity of 60%. In 8-14 days, local necrosis develops on the inoculated *Scopolia* leaves.

Indicator plants with a short incubation period have been identified: petunia, artichoke, tomato of the Slivochny and Agata varieties. Diagnostic regimes for these indicators have been developed: at 24-27 °C, 16-hour light day, light intensity of 5000-7000 lux to induce reaction by the 7th – 10th day (Krasnov, 2000).

It was also shown that the Volgograd 5/95 tomato variety could be used as an indicator plant since it exhibits the symptoms earlier and its stunted growth is more obvious than in the Rutgers tomato variety which is traditionally used as an indicator plant for PSTVd (Girsova, 2003).

We have succeeded in transferring PSTVd isolate from an infected potato plant into tomato plants of the Mona

This method allows detection of up to 800 pg viroid RNA per 1 g of tested plant tissue (Schumacher et al., 1986), detection of viroid in single true potato seed (Singh et al., 1988) and diagnose viroid strains (Singh, Boucher, 1987).

For wide application a simplified version of the test, developed by M. Schroeder, H. Weidemann (1989) is recommended.

However, PSTVd RNA and other pospiviroid are almost identical with the molecular weight, so this method does not allow identification to the species level, and should be combined with a confirmatory analysis by PCR method.

Hybridization of nucleic acids

The method is based on the ability of cDNA viroid to form hybrid with native molecule, immobilized on a solid or liquid membranes. The resulting complex is detected with the probe radioactive, enzymatic or fluorescent tag

The main methods of PSTVd detection are bioassays of indicator plants, polyacrylamide gel electrophoresis, nucleic acid hybridization and polymerase chain reaction.

Lisa and Malinovka varieties showing the typical symptoms of infection (Fig. 5), and from inoculated tomato plants into datura plants (*Datura stramonium*) and several *Nicotiana* species – *N. tabacum*, *N. tabacum* (variety Xanthii) and *N. rustica*. The inoculum was prepared in potassium phosphate buffer (PBS) with pH 7.4.

Inoculated *D. stramonium* plants developed local necrosis and systemic leaf chlorosis, and inoculated *Nicotiana* plants – systemic vein yellowing, interveinal chlorosis and rarely light green mosaic (Fig. 6-8). The viroid presence in the inoculated plants was confirmed by PCR.

Polyacrylamide gel electrophoresis

Electrophoretic detection of low molecular weight viroid RNA in the total nucleic acid sample to be analyzed is recognized the most rapid technological method of diagnosis PSTVd (OEPP/EPPO, 2004). The test is conducted in a bidirectional format (or reverse) electrophoresis in the polyacrylamide gel. The first electrophoresis is performed under native conditions, and the second – in the reverse direction under denaturing conditions (Schumacher et al., 1986).

(Salazar et al., 1983; Lakshman et al., 1986; Bernardy et al., 1987; McInnes et al., 1989; Candresse et al., 1990; Khan et al., 2009). A probe is designed using a diene-platinum tag, allowing detection of 0.3 pg RNA viroid (Drygin et al., 1996; Kondakova, Drygin, 1999).

Polymerase chain reaction (PCR)

Currently for PSTVd diagnosis most commonly are used molecular techniques based on PCR.

In the EPPO Diagnostic protocol PM 7/33 (1) (EPPO/OEPP 2004) and ISPM Standard № 27 (ISPM, 2006) to detect PSTVd in the format of a classical RT-PCR recommended to use specific primers 3H1-F/2H1-R (Shamloul et al., 1997; Weidemann, Buchta, 1998) as well as primers PLANT-UNI/ PLANT-UN2 (Kolchinsky et al., 1991) for internal control. These primers allow obtaining the product sized 359 bp, which corresponds to the complete genome PSTVd.

Primers 3H1-F/2H1-R, passed the international inter-laboratory testing, are widely used today for the examination of regulated products, seed certification of Solanaceae crops and research. The disadvantage of these primers is their incomplete species specificity, since along with PSTVd they also re-



Fig. 8. Symptoms of vein yellowing and interveinal chlorosis on *N. rustica* (on the left) and *N. tabacum* (*Xanthii* variety) (on the right), inoculated with PSTVd MT-08 (2) isolate from a tomato plant of the *Mona Lisa* variety (FGBU VNIKR Quarantine greenhouse, 2015, photo by the authors)

Рис. 8. Симптомы пожелтения жилок и межжилкового хлороза на растениях *N. rustica* (слева) и *N. tabacum* (сорт *Xanthii*) (справа), инокулированных изолятом PSTVd MT-08 (2) с растения томата сорта Мона Лиза (карантинная теплица ФГБУ «ВНИИКР», апрель 2015 г., фото авторов)

act with the other three pospiviroids – Mexican papita viroid (MPVd), Tomato chlorotic dwarf viroid (TCDVd) and Tomato planta Macho viroid (TPM-Vd) (ISPM, 2006). For potato it is not a significant problem, as the culture of pospiviroids infects only PSTVd. However, tomato identified a complex of pospiviroids, which necessitates of obligatory sequencing of the amplification products.

Primers for classical RT-PCR to separate sections of the genome or the complete genome PSTVd has also been developed by a number of other authors (Querci et al., 1995, 1997; Behjatnia et al., 1996; Nakahara et al., 1998; Weidemann, Buchta, 1998; Di Serio et al., 2007; Khan et al., 2009; Vassilakos et al., 2012, etc.).

In the EPPO Diagnostic Protocol PM 7/33 (1) for diagnosis of PSTVd it is recommended to use the PCR in “real time” method, developed by R. Mumford et al. (2000).

The Loop-mediated Isothermal Amplification Method (LAMP), adapted for PSTVd diagnosis (Lenarcic et al., 2013), should be mentioned as the latest development

The Russian Federation currently has a reliable basis for diagnosis of PSTVd. Diagnostic kits for detection of PSTVd

are produced by domestic firms Agro-Diagnostika (formats FLASH-PCR and real-time PCR) and Syntol (the format of real-time PCR).

At FGBU VNIKR's Plant Pathology Research and Methodology Department testing of complex issues was conducted to identify PSTVd by methods of classical PCR, FLASH-PCR and PCR in real time.

We used isolates PSTVd, provided by employees of VNIIF and VNIKH, for which the authors express their deep appreciation.

Testing of PSTVd diagnostic by FLASH-PCR

It was found that during the test with a kit of FLASH-PCR to PSTVd by the firm AgroDiagnostika the effective purification of RNA viroid is achieved by kits for nucleic acid isolation of domestic manufacturers: Proba-NK, Proba-GS (AgroDiagnostika) and NC-M-Sorb (Syntol) during manual cleaning, as well as by the kit of M-Sorb-Tube-automatic (Syntol) – on the automatic station for the isolation of nucleic acids Freedom Evo (Tecan, Switzerland).

Besides, for the FLASH-PCR the cDNA synthesis viroid can be realized by kit of reagents for reverse transcription of the AgroDiagnostika firm, con-

taining primer Random, MMLV RT Kit (Evrogen, Russia), containing primers Oligo (dT)₁₇ and Random dN₁₀ and the Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit (ThermoScientific, the USA), containing primers Oligo (dT)₁₈ and Random (dN)₆.

The kit for FLASH-PCR to the PSTVd of the AgroDiagnostika allows detection of all viroid isolates in fresh and frozen at -80 °C leaves and tubers of potato plants and tomato leaves. The false-positive reaction with similar bodies of healthy potato and tomato plants was not observed.

With using of the test kit it was determined that PSTVd is localized in various tissues of infected potato tubers: in eyeholes, on the skin of the stolons of tubers, in the pulp adjacent to the vascular ring, and in the core of tubers. All these tuber tissues may be used for viroid detecting.

The high specificity of this kit is detected, as there was no cross-reactivity with closely related to pospiviroid Chrysanthemum stunt viroid (CSVd), as well as with different viruses infecting potato: PVX, PVS, PVM, PVY, APMoV, APLV, PYDV, PMTV, PAMV, related to the genera of potexvirus, komovirus, karlovirus, tymovirus and furovirus.

The sensitivity of this method is very high. In our experiments, detection of viroid was achieved at a dilution of infectious juice of tomato leaves to 10⁶ degrees (i.e., 100 000) and by combining of 5-10 slices of (weight 0.5 g) infected potato tubers' pulp with the same 190-195 with similar healthy slices of potato tubers.

Analytical reproducibility and repeatability of the tests by the kit for FLASH-PCR to PSTVd was 100%.

The possibility of using nucleic acid preparations prepared for bacteriological examination (shaking of tubers samples in a buffer, centrifuging the suspension, the selection of nucleic acid by Proba-GS and M-Sorb-Automatic-Tub) kits, and also to identify PSTVd. In several experiments viroid detection was achieved without the isolation of nucleic acids directly in the centrifuged suspension, but the reproducibility of these results was not high enough.

Validation of the diagnostic kit PSTVd for PCR in real time of the Syntol firm

In the kit of Syntol firm the reverse transcription is combined in a single tube with polymerase chain reaction, which reduces the possibility of contamination and reduces the duration of the tests.

During the validation the nonspecific reactions used in the primer kit with various viruses infecting potato

Currently for PSTVd diagnosis most commonly are used molecular techniques based on PCR.

were not observed: PVY, PVS, PVM, PMTV, APMoV, APLV, PYDV, PAMV and PBRSV.

The analytical sensitivity of this kit is within the sixth dissolving of infectious juice of tomato plants and the seventh dissolving of purified RNA viroid.

Analytical reproducibility and repeatability of results when using a test kit were 100%.

It was found that for the tests with the kit reagents the purification of RNA viroid may be carried out with a variety of kits for nucleic acid isolation Proba-NK, Proba-GS (AgroDiagnostika) NC-M-Sorb, M-Sorb-Tube-Automatic (Syntol), RNAqueous Kit (Life Technologies).

The kit for real-time-PCR of the Syntol firm can detect PSTVd in fresh and frozen at -80 °C leaves and tubers of potato plants, the leaves of tomato plants, *Nicotiana tabacum* and *Datura stramonium*. The false-positive reactions with similar bodies of healthy plants were not observed. The kit can also detect viroid in juice samples deposited on the membrane for nucleic acids archiving.

Testing diagnostic of PSTVd by the method of classical PCR with primers 3H1-F/2H1-R (A. Shamloul et al., 1997) и PSTVd-1P/PSTVd-1M (K. Nakahara et al., 1998)

A comprehensive testing of PCR with primers 3H1-F/2H1-R is recommended by the diagnostic protocols of EPPO and ISPM.

As a result of testing of RNA PSTVd isolation it was stated the advantage of the kits for isolation of nucleic acids NC-M-Sorb of Syntol firm and Proba-NK AgroDiagnostika firm compared with a kit of RNAqueous Kit of the Life Technologies firm (US). It was found during the subsequent RT-PCR of the isolated RNA with amplification kits Mas^{DR}TaqMix-2025 and Tersus PCR Kit (Evrogen).

In preliminary experiments, it was found that cDNA synthesized using the reagent kit for reverse transcription of the firm AgroDiagnostika, is not always suitable for the subsequent PCR with primers 3H1-F/2H1-R.

In subsequent experiments, cDNA of

proposed value in the gels there were numerous nonspecific bands and smears. In this variant with a kit of Screen Mix nonspecific products were less while using the cDNA synthesized with primer Oligo (dT)₁₆, and in variant with Encyclo PCR Kit – with the Random (dN)₆ primer.

In carrying out PCR with kit Mag-MIX-2025 (Dialat) significantly more qualitative specific products of amplification were obtained from cDNA synthesized with primer Oligo (dT)₁₆.

Non-specific amplification products were produced during the PCR with the reagent kit Dream Taq Green PCR Master Mix (ThermoScientific) and Long Range 2 Step RT-PCR Kit (Qiagen, Netherlands) with the use of cDNA, synthesized with reagent kit for the reverse transcription Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit (ThermoScientific). It was stated that for these kits it is necessary to optimize thermal-cycling amplification modes, and above all – temperature of annealing of primers.

Significant effect of the numbers of cycles of amplification on the detection efficiency PSTVd and the quality of the amplified specific products was found. For most of tested by the reagent kits at 30 cycles of amplification the concentration of the specific product was very low, regardless of the method of cDNA synthesis. Most quality-specific products were obtained during 35 cycles of amplification. By increasing the number of cycles up to 40 the number of non-specific products and smears significantly increased.

Identification of PSTVd in juice samples deposited on the membrane for archiving nucleic acids was achieved at a combination of reverse transcription Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit of the ThermoScientific (containing a mixture of primers OT Oligo (dT)₁₈ and Random (dN)₆) and the kit of reagents for PCR Mas^{DR}TaqMix-2025 (Dialat).

It was found that analytical sensitivity of the classical PCR with primers 3H1-F/2H1-R is within the fifth dilution of the infectious juice of tomato plants (i.e. 10 thousand) and one time less than with that of the FLASH-PCR method.

At using reagent kits Screen Mix HS (Evrogen), Tersus PCR Kit (Evrogen) and MasDR^{Taq}Mix-2025 (Dialat) analytical reproducibility and repeatability of PCR with primers 3H1-F/2H1-R amounted 100%.

In the international standards there is contained the requirement to use in the screening and confirmatory tests of different pairs of primers. Therefore, along with the primers F-3H1/2H1-R we have worked out the classical PCR with specific primers PRSTVd-1P/PRSTVd-1M (Nakahara et al., 1998), that amplify product of size 300 bp.

For experiments with these primers the reaction of reverse transcription is performed with kits MMLV RT Kit (Evrogen), First Strand cDNA Synthesis Kit (ThermoScientific), Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit (ThermoScientific), Sensiscript RT Kit (Qiagen) and a kit of reagents for reverse transcription of the AgroDiagnostika (Russia) firm.

When setting a reaction of reverse transcription the universal primers were tested: Oligo (dT)₁₆, Oligo (dT)₁₇, Oligo (dT)₁₈, Random (dN)₆ and Random (dN)₁₀.

The subsequent amplification was performed with the reagent kit Tersus PCR Kit, Screen Mix HS, Encyclo PCR Kit (Evrogen), Long Range 2 Step RT-PCR Kit (Qiagen), Dream Taq Green PCR Master Mix (ThermoScientific), Mas^{DD}TaqMix-2025 and MasMix-2025 (Dialat).

At amplification of cDNA isolates PSTVd, synthesized by the reagents MMLV RT Kit, the products of the highest quality were achieved with the specific reagent Tersus PCR Kit and MasMix-2025. The reagent kit Mas^DTaqMix-2025 was weaker in this aspect. When using the reagent kit Screen Mix HS the formation of non-specific products was observed. Use during the reverse transcription of primer Oligo (dT)₁₆ had a slight advantage in terms of obtaining a more pure amplification product compared to the primer Random (dN)₆. However, when using the Random (dN)₆ primer there were obtained visually more concentrated specific bands.

Specific products of the planned values were also obtained with a kit of reagents Long Range 2 Step RT-PCR Kit (Qiagen) at using cDNA, synthesized by the kit of reagents of the AgroDiagnostika firm.

During the PCR with the reagent kit Encyclo PCR Kit (Evrogen) and Dream Taq Green PCR (ThermoScientific) along with specific products were observed the formation of non-specific products and smears. For these kits

of reagents there is a need for detailed optimization of thermal cycling conditions.

For PCR with the kit of reagents Tersus PCR Kit was tested cDNA, synthesized by five kits of reagents for reverse transcription MMLV RT Kit, Sensiscript RT Kit, First Strand cDNA Synthesis Kit – with primer Random (dN)₆, of the AgroDiagnostika firm – with primer Random (chemical formula of the primer is not disclosed by the manufacturer) and Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit, consisting of reaction mix primers Oligo (dT)₁₈ and Random (dN)₆.

According to the results of the experiment the possibility of synthesis of cDNA isolates PSTVd by all the tested kits of reagents for reverse transcription is stated. Most qualitative specific amplification products are obtained with cDNA synthesized by the kits MMLV RT Kit, and Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit. Visually, the less concentrated specific products are obtained from cDNA synthesized by the kit for reverse transcription of the firm AgroDiagnostika. An intermediate position on the quality of the amplification products had versions with cDNA synthesized by the Sensiscript RT Kit and First Strand cDNA Synthesis Kit.

Experiments to optimize the synthesis of cDNA PSTVd were also conducted by using universal primers Oligo (dT)₁₇, Oligo (dT)₁₈, Random (dN)₆ и Random (dN)₁₀. There were used in the experiment: RNA strains PSTVd, isolated by the kit RNAqueous Kit (Life Technologies); reagent kit for reverse transcription MMLV RT Kit (Evrogen) and reagent kit for PCR Tersus PCR Kit (Evrogen).

It is found that the synthesis of cDNA PSTVd is possible with the help of all tested universal primers. However, the most high-qualitative products are obtained with the specific kit of Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit, containing a mixture of primers Oligo (dT)₁₆ and Random (dN)₆. Use of primers Random (dN)₆ and Random (dN)₁₀ has a slight advantage in terms of obtaining the more specific quality products as compared to using the primers Oligo (dT)₁₇ and Oligo (dT)₁₈.

It was also found that the PCR with primers PPSTV-1P/PPSTV-1M isolation of RNA strains PSTVd can be effectively carried out with kits of reagents for nucleic acid extraction Proba-NK

(AgroDiagnostika), NC-M-Sorb (Synzol) and RNAqueous Kit (Life Technologies).

The analytical sensitivity of the classical PCR with primers PPSTV-1P/PPSTV-1M is within the fourth diluting of infectious tomato juice and is slightly weaker in the aspect of PCR with primers 3H1-F/2H1-R.

When using the reagents kit Tersus PCR Kit (Evrogen) and Mas^{DR}TaqMix-2025 (Dialat) analytical reproducibility and repeatability of PCR primers PPSTV-1P/PPSTV-1M amounted 100%.

On the results of the experiments it can be concluded that the primers PPSTV-1P/PPSTV-1M can be effectively used for the diagnosis of PSTVd. For PCR with these primers different sets of reagents for reverse transcription and amplification can be used, as well as preparations of RNA isolated using various methods.

Validity of the amplification products obtained in the tests with primers PPSTV-1P/PPSTV-1M and 3H1-F/2H1-R was confirmed by sequencing.

References

- Berlinchik E.E. Detection and identification of Potato spindle tuber viroid using visual examination and indicators // Journal of the Belarusian Academy of Sciences, 1997. № 3. pp. 50-52.
- Girsova N.V., Cand. Sc. {Biology}. Potato spindle tuber viroid (Detection and identification, infectivity retention and pathogen transmission) // Abstract of the thesis. Bolschiye Viasemy, 2003. P. 24.
- Drygin U.F., Musin S.M., Kondakova O.A. Molecular diagnostics of improved potato varieties for Potato spindle tuber viroid infection // Reports of the RAAS, 1996. № 6. pp. 24-25.
- Kastaleva T.B., Mozhayeva K.A., Pisetskaya N.F., Romanova S.A., Trofimets L.N. Potato spindle tuber viroid and potato improvement // Bulletin of RAAS, 1992. № 3. pp. 3-5.
- Kastaleva T.B., Girsova K.A., Mozhayeva K.A., Owens R.A. Properties of Russian isolates of Potato spindle tuber viroid (PSTVd) // Integrated Plant Protection: strategy and tactics / Proceedings of the International. Scientific Conference dedicated to the 40th anniversary of RUE Institute of Plant Protection. Minsk, 5-8 July, 2011. pp. 523-526.

6. Kondakova O.A., Drygin U.F. Diagnostics of Potato spindle tuber viroid using (dien) Pt-DNA // Biotechnologia, 1999. № 4. pp. 83-91.

7. Krasnova M.V., Cand. Sc. {Biology}. Potato spindle tuber viroid in the Northwest region of the Russian Federation // Abstract of the thesis, St. Petersburg, 2000. P.23.

8. Leontieva U. A. Doctor of Biological Sciences. Spindle tuber ("gothic") – one of the major viral diseases of potato in the Volga region // Abstract of the thesis. Pushkin, 1971. P. 43.

9. Mozhaeva K.A., Meldrais Yu.A., Druka A.Ya., Kastaleva T.B., Lain I.E., Vasilyeva T.Ya. Comparative studies of various diagnostic methods for the Potato spindle tuber viroid // Scientific Papers of Higher Education Institutions. Biological Sciences, 1989. № 7. pp. 104-110. Mozhayeva K.A., Vasilyeva T.Y., Kastaleva T.B. Distribution of Potato spindle tuber viroid when growing virus-free potato // Protection of plants in the process of reforming the agricultural sector: economy, efficiency, environmental soundness / Abstracts of the All-Russian Plant Protection Congress. St. Petersburg, 1995. pp. 67-68.

10. Mozhayeva K.A., Vasilyeva T.Y., Kastaleva T.B. Distribution of viroid spindle tuber at obtaining of the virus-free potato // Protection of plants in the conditions of agriculture reforming: the economy, efficiency, environmental-ity / Abstracts of reports of the All-Russian Congress of Plant Protection. St. Petersburg, 1995. P. 67-68.

11. Mozhayeva K.A., Vasilyeva T.Y., Kastaleva T.B. Infection with Potato spindle tuber viroid // Journal of the RAAS, 1996. № 3. pp. 57-58.

12. Romanov S.A., Mozhayeva K.A., Reyfman V.G., Ledneva V.A. Potato spindle tuber viroid in the Far East // Problems of the Far East Phytovirology. 1996. pp. 41-47.

13. Tereshenko O.I. New potato disease. // Sad ta Gorod. 1937. № 10. pp. 13-17.

14. Yakovleva G.A. Potato spindle tuber viroid. Testing collection varieties and wild species of potatoes deposited in vitro in the Belarusian Research Potato Institute // News of the Academy of Agrarian Sciences of the Republic of Belarus, 2001. № 1. P. 45-49.

15. Behjatnia S.A., Dry I.B., Krake L.R., Conde B.D., Connelly M.I., Randles J.W., Rezaian M.A. (1996) New potato spindle tuber viroid and tomato leaf

curl geminiviroid strains from a wild *Solanum* sp. // Phytopathology. Vol. 86. P. 880-886.

16. Bernardy R.G., Jacoli G.G., Ra-getli H.W. (1987) Rapid detection of potato spindle tuber viroid by dot blot hybridization // J. Phytopathol. Vol. 118. P. 171-180.

17. Blotskaya Z.V., Berlinchik E.E. (1998) Occurrence and harmfulness of Potato spindle tuber viroid (PSTVd) in the Republic of Belarus // Arch. Phytopath. Pflanz. Vol. 31. P. 453-457.

18. Candresse T., Macquaire G., Brault V., Monsion M., Dunez J. (1990) ³²P- and biotin-labelled in vitro transcribed cRNA probes for the detection of potato spindle tuber viroid and chrysanthemum stunt viroid // Research in Virology. Vol. 141. P. 97-107.

19. Catley A. (1987) Outbreaks and new records. Australia: eradication of potato spindle tuber viroid // FAO Plant Prot. Bull. Vol. 35. P. 32-33.

20. CIP (1993) Detection PSTVd / Basic techniques in plant virology. International Potato Center (CIP). 1993. 19 s.

21. Di Serio F. (2007) Identification and characterization of potato spindle tuber viroid infecting *Solanum jasminoides* and *S. rantonetti* in Italy // Journal of Plant Pathology. Vol. 89. P. 297-300.

22. Diener T.O., Raimer W.B. (1967) Potato spindle tuber virus. A plant virus with properties of a free nucleic acid // Science. Vol. 158. P. 847-895.

23. EPPO/CABI (1997) Potato spindle tuber viroid // In: Quarantine Pests for Europe, 2nd edn., CAB International, Wallingford (GB).

24. Fernow K.H., Peterson L.C., Plaisted R.L. (1969) The tomato test for eliminating spindle tuber from potato planting stock // American Potato J. Vol. 46. P. 424-429.

25. Fernow K.H., Peterson L.C., Plaisted R.L. (1970) Spindle tuber virus in seeds and pollen of infected plants // American Potato Journal. Vol. 47. P. 75-80.

26. Grasmick M.E., Slack S.A. (2011) Effect of potato spindle tuber viroid on sexual reproduction and viroid transmission in true potato seed Canadian Journal of Botany 01/2011; 64 (2): 336-340.

27. Herold T., Haas B., Singh R.P., Boucher A., Sanger H.L. (1992) Sequence analysis of five new field isolates demonstrates that the chain length of

potato spindle tuber viroid (PSTVd) is not strictly conserved but is variable as in other viroids // Plant Molecular Biology. Vol. 19. P. 329-333.

28. ISPM (2006) Potato spindle tuber viroid. International Standard for Phytosanitary Measures. 27 sw.

29. Khan M.S., Timmermann C., Hoque M.I., Sarker R.H., Muhlbach H.P. (2009) Detection of potato spindle tuber viroid (PSTVd) in minute amounts of potato (*Solanum tuberosum* L.) leaf tissue by hybridization techniques and, together with potato viruses, by multiplex RT-PCR // J. Plant Dis. and Protection. Vol. 116. P. 97-105.

30. Kolchinsky A., Kolesnikova M., Ananiev E. (1991) Portraying of plant genomes using polymerase chain reaction amplification of ribosomal 5S genes // Genome. Vol. 34. P. 1028-1031.

31. Lakshman D.K., Hiruki C., Wu X.H., Leung W.C. (1986) Use of ³²P RNA probes for the dot-hybridization detection of potato spindle tuber viroid // J. Virol. Methods. Vol. 14. P. 309-319.

32. Lebas B.S., Clover G.R., Ochoa-Corona F.M., Elliott D.R., Tang Z., Alexander B.J. (2005) Distribution of potato spindle tuber viroid in New Zealand glasshouse crops of capsicum and tomato // Australian Plant Pathology. Vol. 34. P. 129-133.

33. Lenarcic R., Morisset D., Mehle N., Ravnikar M. (2013) Fast real-time detection of Potato spindle tuber viroid by RT-LAMP Plant Pathology 62, 1147-1156.

34. Lykke Nielsen S., Enkegaard A., Nicolaisen M., Kryger P., Virsvscek M. Marn, Mavrivc Plevsko I., Kahrer A., Gottsberger R. (2012) No transmission of Potato spindle tuber viroid shown in experiments with thrips (*Frankliniella occidentalis*, *Thrips tabaci*), honey bees (*Apis mellifera*) and bumblebees (*Bombus terrestris*) European Journal of Plant Pathology 02/2012; 133 (3): 505-509.

35. Mackie A.E., McKirdy S.J., Rondoni B. & Kumar S. (2002) Potato spindle tuber viroid eradicated in Western Australia. Australasian Plant Pathology, 31: 311-312.

36. McInnes J.L., Habili N., Symons R.H. (1989) Nonradioactive, photobiotin-labelled DNA probes for routine diagnosis of viroids in plant extracts // J. Virol. Methods. Vol. 23. P. 299-312.

37. Mertelik J., Kloudova K., Cervena G., Necekalova J., Mikulkova H., Levkanicova Z. (2009) First report of Potato spindle tuber viroid (PSTVd) in

Brugmansia spp., *Solanum jasminoides*, *Solanum muricatum* and *Petunia* spp. in the Czech Republic // New Disease Reports. Vol. 19.

38. Morris T.J., Smith E.M. (1977) Potato spindle tuber disease: procedures for the detection of viroid RNA and certification of disease-free potato tubers // Phytopathology. Vol. 67. P. 145-150.

39. Mumford R.A., Walsh K., Boonham N. (2000) A comparison of molecular methods for the routine detection of viroids // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. Vol. 30. P. 431-435.

40. Nakahara K., Hataya T., Hayashi Y., Sugimoto T., Kimura I., Shikata E. (1998) A mixture of synthetic oligonucleotide probes labeled with biotin for the sensitive detection of potato spindle tuber viroid // J. Virol. Methods. Vol. 71. P. 219-227.

41. OEPP/EPPO (2004) Standard PM 7/33 (1) Potato spindle tuber pospiroid. Diagnostic protocol for regulated pests // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. 2004. Vol. 41. P. 394-399.

42. OEPP/EPPO (2011) Standard PM 9/13 (1) Potato spindle tuber viroid on potato. National regulatory control systems // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. 2011. Vol. 34. P. 394-399.

43. Puchta H., Herold T., Verhoeven K., Roenhorst A., Ramm K., Schmidt-Puchta W., Sanger H.L. (1990) A new strain of potato spindle tuber viroid (PSTVd-N) exhibits major sequence differences as compared to all other strains sequenced so far // Plant Molecular Biology. Vol. 15. P. 509-511.

44. Querci M., Owens R.A., Vargas C., Salazar L.F. (1995) Detection of Potato spindle tuber viroid in avocado growing in Peru // Plant Disease. Vol. 79. P. 196-202.

45. Querci M., Owens R.A., Bartolini I., Lazarte V., Salazar L.F. (1997) Evidence for heterologous encapsidation of potato spindle tuber viroid in particles of potato leafroll virus // Journal of General Virology. Vol. 78. P. 1207-1211.

46. Salazar L.F., Owens R.A., Smith D.R., Diener T.O. (1983) Detection of potato spindle tuber viroid by nucleic acid spot hybridization with tuber sprouts and true potato seed // American Potato J. Vol. 60. P. 587-597.

47. Salazar L.F., Querci M., Bartolini I., Lazarte V. (1995) Aphid transmission

of potato spindle tuber viroid assisted by potato leafroll virus // Fitopatologia. Vol. 30. P. 56-58.

48. Schroeder M., Weidemann H.L. (1989) Simplified application of return gel electrophoresis for the routine detection of potato spindle tuber viroid // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. Vol. 19. P. 661-665.

49. Schumacher J., Meyer N., Riesner D., Weidemann H.L. (1986) Diagnostic procedure for detection of viroids and viruses with circular RNAs by return-gel electrophoresis // J. Phytopath. Vol. 115. P. 332-343.

50. Shamloul A.M., Hadidi A., Zhu S.F., Singh R.P., Sagredo B. (1997) Sensitive detection of potato spindle tuber viroid using RT-PCR and identification of a viroid variant naturally infecting pepino plants // Can. J. Plant Pathology. Vol. 19. P. 89-96.

51. Singh R.P. (1970) Seed transmission of potato spindle tuber virus in tomato and potato // Am. Potato J. Vol. 47. P. 225-242.

52. Singh R.P. (1973) Experimental host range of the potato spindle tuber "virus" // American Potato J. Vol. 50. P. 111-123.

53. Singh R.P. (1984) *Solanum berthaultii*, a sensitive host for indexing potato spindle tuber viroid from dormant tubers // Potato Research. Vol. 27. P. 163-172.

54. Singh R.P., Finnie R.E. (1977) Stability of potato spindle tuber viroid in freeze-dried leaf powder // Phytopathology. Vol. 67. P. 283-286.

55. Singh R.P., Boucher A. (1987) Electrophoretic separation of severe from mild strains of potato spindle tuber viroid // Phytopathology. Vol. 77. P. 1588-1591.

56. Singh R.P., Crowley C.F. (1985) Successful management of potato spindle tuber viroid in seed potato crops // Can. Plant Dis. Surv. Vol. 65. P. 9-10.

57. Singh R.P., Boucher A., Seabrook J.E. (1988) Detection of the mild strains of potato spindle tuber viroid from single true potato seed by return electrophoresis // Phytopathology. Vol. 78. P. 663-667.

58. Singh R.P., Boucher A., Wang R.G. (1991) Detection, distribution and long-term persistence of Potato spindle tuber viroid in true potato seed from

Heilongjiang, China // Am. Potato J. Vol. 68. P. 65-74.

59. Singh R.P., Boucher A., Somerville T.H. (1992) Detection of potato spindle tuber viroid in the pollen and various parts of potato plant pollinated with viroid-infected pollen // Plant Disease. Vol. 6. P. 951-953.

60. Vassilakos N., Kektsidou O., Papaeythimiou M., Varveri C. (2012) Comparison of direct-RT-PCR and dot-blot hybridization for the detection of Potato spindle tuber viroid in natural host plant species // Eur. J. Plant Pathol. Vol. 134. P. 859-864.

61. Verhoeven J.T., Roenhorst J.W. (1995) Virological risks accompanying the increased interest in pepino (*Solanum muricatum*). Proceedings of the 8th Conference on Virus Diseases of Vegetables, Prague (CZ). P. 109-112.

62. Verhoeven J.T., Jansen C.C., Roenhorst J.W. (2008a) First report of pospiroids infecting ornamentals in the Netherlands: Citrus exocortis viroid in *Verbena* sp., Potato spindle tuber viroid in *Brugmansia suaveolens* and *Solanum jasminoides*, and Tomato apical stunt viroid in *Cestrum* sp. // Plant Pathology. Vol. 57. P. 399-400.

63. Verhoeven J.T., Jansen C.C., Roenhorst J.W. (2008b) *Streptosolen jamesonii* 'Yellow', a new host plant of Potato spindle tuber viroid // Plant Pathology. Vol. 57. P. 399.

64. Verhoeven J.T., Botermans M., Roenhorst J.W., Westerhof J., Meekes E.T. (2009) First report of Potato spindle tuber viroid in Cape gooseberry (*Physalis peruviana*) from Turkey and Germany // Plant Disease. Vol. 93. P. 316.

65. Verhoeven J.T., Jansen C.C., Botermans M., Roenhorst J.W. (2010a) Epidemiological evidence that vegetatively-propagated, solanaceous plant species act as sources of Potato spindle tuber viroid inoculum for tomato // Plant Pathology. Vol. 59. P. 3-12.

66. Weidemann H.L., Buchta U. (1998) A simple and rapid method for the detection of Potato spindle tuber viroid (PSTVD) by RT-PCR // Potato Research. Vol. 41. P. 1-8.

67. Werner-Solska J. (1983) The transmission of Potato spindle tuber viroid by insects – in the light of the literature // Biuletyn Instytutu ziemniaka. Vol. 29. P. 57-62.

РЕЖИМЫ ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ЛЕСА И ЛЕСОМАТЕРИАЛОВ ОТ ВРЕДИТЕЛЕЙ ДРЕВЕСИНЫ

Р.К. Магомедов, ведущий научный сотрудник группы обеззараживания ФГБУ «ВНИИКР»

Еще в 1983–1985 гг. Европейская и Средиземноморская организация по карантину и защите растений (ЕОКЗР) начала разрабатывать фитосанитарные правила в международной торговле не только по отношению к сельскохозяйственной продукции, посевному и посадочному материалу, но также к древесине и пиломатериалам. Сначала ограничения касались только некоторых вредителей и возбудителей заболеваний древесных пород, отсутствующих в европейском и средиземноморском регионах, затем они распространились на ряд переносчиков возбудителей заболеваний и нематод.

Ограничения ужесточились после обнаружения агрессивных патотипов древесных нематод, в частности сосновой нематоды *Bursaphelenchus xylophilus*, при ввозе древесины хвойных пород из США в ряд стран. Отмечено, что этот вид переносят усачи рода *Monochamus* и некоторые другие стволовые вредители, которые широко представлены в лесной фауне России, в то время как в некоторых странах — членах ЕОКЗР, например Великобритании, вообще не встречаются. В древесине, экспортируемой из России, был обнаружен близкородственный вид нематоды — *B. mucronatus*, жизненный цикл которой, возможно, также связан с переносчиками из рода *Monochamus*.

Увядание хвойных пород, вызываемое сосновой стволовой нематодой, можно отнести к наиболее опасным заболеваниям лесных насаждений в мире.

Вред, наносимый сосновой стволовой нематодой хвойным породам, весьма существен. Наглядно это видно на примере Японии. В 1970-х годах ущерб от потерь строевого леса ежегодно составлял 2,4 млн м³. Как показал анализ, значительная терри-

тория Россия благоприятна для адаптации сосновой стволовой нематоды (Кулинич, Козырева, 2004).

Несмотря на то что сосновая стволовая нематода официально считается видом, отсутствующим на территории РФ, южная часть территории РФ — Краснодарский, Ставропольский края, Крым — благоприятна для адаптации нематоды. Ежегодный ущерб при адаптации этого патогена в России может достичь от 40 до 112 млрд рублей.

Большинство номинальных видов нематод этого рода в жизненном цикле облигатно связаны со стволовыми насекомыми. Последние являются переносчиками нематод с одного дерева на другое в период питания и откладки яиц.

В связи с этим возрастают карантинные требования не только к древесине, которая вывозится из нашей страны, но и к древесному упаковочному материалу. Упаковочная и крепежная древесина требует фитосанитарной регламентации, поскольку может служить средством заноса и распространения карантинных вредных организмов. По этой причине Секретариатом Международной конвенции по карантину и защите растений (МККЗР) был выработан стандарт, рекомендующий проведение маркировки древесного упаковочного и крепежного материалов, заменяющий фитосанитарные сертификаты.

В соответствии с Международным стандартом по фитосанитарным мерам МСФМ № 15 «Руководство по регулированию древесных упаковочных материалов в международной торговле», обеззараживать древесный материал можно термической



Fig. 1. Pine wood nematode (*Bursaphelenchus mucronatus*)

Рис. 1. Сосновая стволовая нематода (*Bursaphelenchus mucronatus*)

тепловой обработкой, фумигацией бромистым метилом по заданным стандартам обработки (МСФМ № 15, 2009).

В борьбе с насекомыми карантинного значения, в том числе и вредителями леса и лесоматериалов, наиболее эффективным и удобным в применении методом фумигации является метод фумигации бромистым метилом. Однако с 2008 года он был ограничен в применении. Такое положение сложилось потому, что РФ подписала Монреальский протокол, обязывающий обеспечить снижение и постепенное прекращение выбросов в атмосферу Земли озоноразрушающих веществ, к которым относится и бромистый метил.

В настоящее время для защиты лесопроductии от насекомых и нематод специалистами используются различные методы: тепловая обработка горячим и влажным воздухом 85 °С и ОВВ 50%, термическая обработка при 56 °С, гамма-облучение, химические препараты, такие как фосфин, окись этилена, сульфурил-фторид, ряд контактных препаратов.

Увядание хвойных пород, вызываемое сосновой стволовой нематодой, можно отнести к наиболее опасным заболеваниям лесных насаждений в мире.



Fig. 2. *Monochamus alternatus*

Рис. 2. Черный усач (*Monochamus alternatus*)

Фтористый сульфурил (Vicare) зарегистрирован в США, Германии, Швеции для обработки древесины против вредителей и возбудителей грибковых заболеваний. В качестве фумигантов для обеззараживания древесины, разрешенных к применению в 2015 году, в РФ является также магтоксин фирмы Дегеш.

По данным отдела обеззараживания, фосфин проникает как в листовую (береза), так и в хвойную (сосна) древесину. При этом, как правило, поперечное проникновение газа проходит быстрее, нежели продольное. На сосне та же закономерность наблюдается за более длительный время. Так, через 4–6 часов концентрация фосфина при попе-

речном проникновении в древесину сосны в 2–2,5 раза больше, нежели при продольном, и такое соотношение длится до 30 часов. Объяснить это можно большей плотностью древесины сосны по сравнению с березой. При закладке таблеток непосредственно в бревна диффузия фумиганта увеличивалась.

Смертность биоиндикаторов, заложенных в бревна березы и сосны, показывает, что фосфин вызывает их гибель при достаточно длительной экспозиции.

Большой интерес вызывает малоизвестный в РФ препарат йодистый метил. Известно, что йодистый метил использовался в качестве фунгицида, гербицида, инсектицида, а также как дезинфицирующее средство для обеззараживания почвы. Сделан вывод о том, что йодистый метил можно рассматривать в качестве эффективной альтернативы бромистому метилу.

Озоноразрушающая способность йодистого метила оценивается как 0,016, а бромистого метила — 0,65.

Йодистый метил имеет ряд свойств, в частности наличие запаха, невоспламеняемость, достаточно высокое парциальное давление, что делает возможным его использование для обеззараживания зерна и лесопроductии.

В связи с тем, что йодистый метил — жидкость с температурой кипения 42,4 °С и ядовитые свойства проявляются только при испарении

жидкости, использование этого препарата более безопасно для специалистов, проводящих обеззараживание.

Йодистый метил широко используется в синтезе органических соединений. В настоящее время йодистый метил не зарегистрирован в качестве фумиганта в РФ.

По результатам исследований йодистого метила как фумиганта против комплекса вредителей запасов, проведенных в 2011–2013 гг., были сделаны следующие выводы:

- йодистый метил по биологической эффективности обеззараживания зерновой продукции против вредителей запасов представляет интерес для дальнейшего изучения как средство, альтернативное бромистому метилу;

- минимальной летальной дозировкой обеззараживания против комплекса вредителей запасов, в том числе насекомых карантинного значения, является 4 г йодистого метила на 1 м³, при экспозиции 48 часов (192 часограмма) и температуре +17–20 °С. При этом режиме обеззараживания достигалась 100% смертность против имаго акароидных клещей, жуков рисового долгоносика, малого мучного хрущака, имаго большого мучного хрущака и зерноядных кожеедов рода *Trogoderma* — капрового жука и трогодермы изменчивой.

- в связи с тем, что давление паров йодистого метила достаточно высокое (400 мм рт. ст.), фумигация леса

Режимы обеззараживания лесопроductии йодистым метилом

Биологический индикатор	Норма расхода, г/м ³	Экспозиция, час.	Температура, °С	ПСКВ, часограмм
Трогодерма изменчивая	6	48	16	288

$$N = \frac{K \times V}{2.28},$$

где N — необходимое количество жидкого йодистого метила, мл;

K — норма расхода согласно режимам, г/м³;

2,28 — удельный вес йодистого метила, г/см³;

V — объем фумигируемого помещения, м³.

и лесоматериалов данным препаратом представляется возможной.

Фумигацию леса и лесоматериалов в стационарных условиях можно осуществлять под покрытиями из синтетических пленок. В качестве покрытия может быть использована полиэтиленовая пленка толщиной 0,03–0,05 мм для однократного использования или более толстая — 0,1–0,15 мм для многократного использования.

Основной целью исследований является изучение проникающего действия различных фумигантов в бревна леса против карантинных вредителей лесопроductии, определение минимальных летальных дозировок ПКВ с использованием для обеззараживания бревен следующих фумигантов: йодистый метил, фосфин, магтоксин, фосфин в смеси с СО₂, углекислый газ различной концентрации, установленные режимы фумигации от сосновой стволовой нематоды (рис. 1) и усачей рода *Monochamus* (рис. 2).

Методика проведения работ

Внутри стационарной вакуумной камеры объемом 0,85 м³ помещались бревна сосны, березы и осины (рис. 3), в отверстиях которых в торцевой и боковой части закладывались биоиндикаторы испытываемых видов вредителей по количеству вариантов (рис. 4). В испаритель внутри камеры помещалось нужное количество препарата, камера закрывалась и герметизировалась; включался внутренний вентилятор для быстрого испарения жидкого препарата на 10 минут, после чего начинался отсчет времени экспозиции.

Необходимое для фумигации количество жидкого йодистого метила рассчитывается по формуле:

Таблица 2

Учет смертности биоиндикаторов в древесных растительных культурах без оболочек (бок, торец) (фумифаст 3 г, экспозиция 6 суток, температура 19 °С)

Биоиндикатор	Учет через 1 час после окончания экспозиции								
	Береза			Сосна			Осина		
	ж	п	м	ж	п	м	ж	п	м
Амбарный долгоносик (<i>Sitophilus granarium</i>)	0	0	10	0	0	10	0	0	10
Контроль			10						

температуре 16–18 °С. Препараты фосфина: фумифаст, магтоксин, концентрация 3 г/м³, фосфин в смеси с углекислым газом, углекислый газ — 45 и 70%.

В качестве биоиндикаторов брались следующие виды вредителей: сосновая стволовая нематода рода *Bursaphelenchus micronatus*, амбарные вредители, по устойчивости близкие усачам рода *Monochamus*, точильщикам: имаго *Sitophilus granarium* — амбарного долгоносика, личинки *Trogoderma variabile* — трогодермы изменчивой и личинки *Trogoderma granarium* — капрового жука.

Содержание фосфина, йодистого метила, углекислого газа в фумигационной камере определяли газоанализатором «Sensis — XXX».

Перед проведением опытов свежесрезанные бревна сосны, зараженные нематодами рода *Bursaphelenchus micronatus*, предварительно выдерживали в термостате для размножения (рис. 6).

Нематоды в высохшей древесине крайне малочисленны и находятся в 3-й устойчивой к внешним условиям личиночной стадии. Для размножения нематод бревна сосны поме-

Рис. 3. Бревна березы, сосны, осины в фумигационной камере



Fig. 3. Logs of birch, pine, aspen in the fumigation chamber

еще одним методом определения концентрации йодистого метила является газожидкостная хроматография.

Предварительно для подтверждения эффективности фумигации йодистым метилом лесоматериалов в качестве биологического индикатора использовали имаго трогодермы изменчивой (*Trogoderma variabile*).

Испытывались концентрации йодистого метила: 2, 4 и 6 мл при

Таблица 1

Учет смертности биоиндикаторов в древесных растительных культурах без оболочек

Биоиндикатор	Условия опыта	Размещение в древесине	Экспозиция 4 суток											
			Береза				Сосна				Осина			
			ж	п	м	Смертность, %	ж	п	м	Смертность, %	ж	п	м	Смертность, %
Учет через 1 час после окончания экспозиции														
Амбарный долгоносик (<i>Sitophilus granarium</i>)	СН ₃ I — 4 мл, экспозиция 72 часа, температура 17 °С	торцевое	0	0	10	100	0	0	10	100	0	0	10	100
Трогодерма изменчивая (<i>Trogoderma variabile</i>)			0	0	10	100	0	0	10	100	0	0	10	100
Учет через 1 час после окончания экспозиции														
Амбарный долгоносик (<i>Sitophilus granarium</i>)	СН ₃ I — 2 мл, экспозиция 48 часов, температура 16 °С	боковое	0	0	10	100	0	0	10	100	0	0	10	100
Амбарный долгоносик (<i>Sitophilus granarium</i>)		торцевое	0	0	10	100	0	0	10	100	0	0	10	100
Капровый жук (<i>Trogoderma granarium</i>) (личинки)		торцевое	0	0	10	100	9	1	0	10	3	5	2	70
Капровый жук (<i>Trogoderma granarium</i>) (личинки)		Учет через 24 часа после окончания экспозиции												
		торцевое	0	0	10	100	5	1	4	55	0	0	10	100

* Примечание: ж — живые; п — парализованные; м — мертвые.

щали в термостат при температуре 25–26 °С на 3-4 недели. Древесину предварительно необходимо немного смочить водой, далее взятые древесные пробы измельчают секатором на мелкие кусочки (рис. 7), далее нематод из древесины выделяют по методу Бермана (рис. 8).

После измельчения каждой пробы контактировавшие с древесиной части инструмента (лезвия секатора, лобзика и пр.) необходимо стерилизовать, протирая ваткой, смоченной спиртом или в пламени зажигалки (лабораторной спиртовки).

Перед выделением нематод кусочки древесины взвешивают с целью дальнейшего пересчета выделенных нематод на 1 г.

В опытах использовались бревна со следующими параметрами:

- бревно сосны: длина — 49,5 см; диаметр — 12 см; объем — 5595,5 см³; глубина торцевых отверстий — 8 см; 7,5 см; глубина бокового отверстия — 5,5 см.

- бревно березы: длина — 48,5 см; диаметр — 13,5 см; объем — 6944,4 см³; глубина торцевых отверстий — 7 см и 8,5 см; глубина бокового отверстия — 7 см.

- бревно осины: длина — 49,5 см; диаметр — 11,5 см; объем — 5144,7 см³; глубина торцевых отверстий — 7,5 см и 9 см; глубина бокового отверстия — 5,5 см.

Таблица 3
Учет смертности биоиндикаторов в древесных растительных культурах без оболочек

Биоиндикатор	Условия опыта	Размещение в древесине	Береза				Сосна				Осина			
			ж	п	м	Смертность, %	ж	п	м	Смертность, %	ж	п	м	Смертность, %
Экспозиция 4 суток														
Амбарный долгоносик (<i>Sitophilus granarium</i>)		боковое	5	3	2	20	3	2	5	50	3	3	4	40
		торцевое	6	1	3	30	2	3	5	50	3	1	6	60
Контроль			4	6										
Экспозиция 5 суток														
Амбарный долгоносик (<i>Sitophilus granarium</i>)	CO ₂ — 45%, температура 19 °С	боковое	2	-	8	80	1	2	7	70	1	1	8	80
		торцевое	3	1	6	60	-	1	9	90	-	1	9	90
Контроль			1	9	90									
Экспозиция 6 суток														
Амбарный долгоносик (<i>Sitophilus granarium</i>)		боковое	-	2	8	80	-	2	8	80	-	2	8	80
		торцевое	-	1	9	90	-	-	10	100	-	-	10	100
Контроль				10	100									
Экспозиция 6 суток														
Амбарный долгоносик (<i>Sitophilus granarium</i>)	CO ₂ — 70%, температура 19 °С	боковое	0	0	10	100	0	0	10	100	0	0	10	100
		Контроль			10	100								

Результаты исследований

При изучении проникающей способности йодистого метила в древесину березы, сосны и осины установлено, что биоиндикаторы (имаго и личинки) капрового жука после 72-часовой экспозиции при концентрации 4–6 мл CH₃I полностью погибали (табл. 1). С уменьшением концентрации CH₃I до 2 мл и экспозиции до 48 часов имаго амбарного долгоносика как при торцевом, так и боковом размещении в древесине погибали на 100%. Однако личинки капрового жука вели себя по-разному в зависимости от породы древесины. Так, в осине была 70% гибель, в сосне 10%, а в березе все биоиндикаторы оставались живыми (табл. 1).

Проведенный через 24 часа после окончания экспозиции учет показал 100% смертность личинок в березе и осине и всего 55% в сосне. Объяснить это можно большей плотностью древесины сосны по сравнению с осиной и березой.

При изучении проникновения фумифага в сосну и березу 100% гибель биоиндикаторов амбарного долгоносика наблюдалась при экспозиции 6 суток (табл. 2). В отличие от йодистого метила, препараты фосфина слабо или вовсе не действуют на личинок капрового жука, помещенных в древесину, ввиду их высокой устойчивости.

Проникновение фумифага в торцевую часть древесины выше, чем в боковую.



Fig. 4. Logs with flat face and transverse openings for laying bio-indicators

Рис. 4. Бревна с торцевыми и поперечными отверстиями для закладки биоиндикаторов

Одним из альтернативных методов обеззараживания древесины может служить фумигация углекислым газом при длительной экспозиции. С этой целью были проведены опыты по обеззараживанию древесины при высоких концентрациях CO₂ — 45% и 70%. При концентрации CO₂ 45% гибель имаго амбарного долгоносика при экспозиции 4 суток составила лишь 30-60%, после 5 суток 60-90%, а после 6 суток 80-100% в зависимости от породы древесины, меньше всего в березе (табл. 3).

Установлено, что минимальная экспозиция для обеззараживания лесоматериалов углекислым газом должна быть не менее 6 суток при

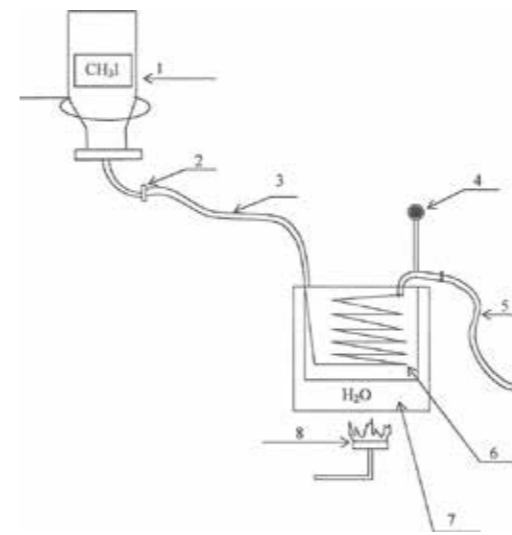


Рис. 5. Схема газоиспарителя:

1 — емкость с жидким йодистым метилом; 2 — зажим; 3 — армированная тefлоновая или полиэтиленовая труба для подачи жидкого йодистого метила; 4 — термометр; 5 — 25-миллиметровая полиэтиленовая труба для подачи испарившегося газа; 6 — медный змеевик; 7 — емкость с водой; 8 — газовая горелка или источник тепла

Fig. 5. The scheme of the gas-evaporator:

1 — container with liquid methyl iodide; 2 — clamp; 3 — reinforced Teflon or polyethylene pipe for the supply of liquid methyl iodide; 4 — thermometer; 5 — 25-millimeter polyethylene pipe for supplying of the vaporized gas; 6 — copper coil; 7 — water container; 8 — gas burner or heat source

температуре 19–20 °С. Обеззараживание бревен при концентрации 70% CO₂ позволяло добиться 100% смертности биоиндикаторов в бревне при экспозиции 6 суток.

Последствие фумигантов на сосновую стволовую нематоду после выделения из опытных бревен сосны определяли подсчетом их биноккулярным методом.

Проведенные исследования по действию фумигантов фосфина и йодистого метила на сосновую стволовую нематоду показала 100% смертность нематод по сравнению с контролем, при экспозиции 3 суток (табл. 4). Углекислый газ в чистом виде слабо повлиял на нематод, после 5 суток фумигации смертность составила лишь 40%.

Заключение

1. Согласно полученным данным, йодистый метил обладает высокой проникающей способностью в древесину и вполне может заменить бромистый метил и фосфин.

2. Для сравнения: для обеспечения 90% смертности вредителей необходима экспозиция фосфина 96 часов, а при использовании йодистого метила — 48 часов, что обеспечивает 100% гибель биоиндикаторов в древесине.

3. Йодистый метил при довольно низкой концентрации 2 мл (5 г/м³) и экспозиции 48 часов при темпера-

Таблица 4
Учет смертности сосновой стволовой нематоды (*Bursaphelenchus mucronatus*) в сосне с оболочкой

Варианты опыта	Смертность, %	
	Экспозиция 3 суток	Экспозиция 5 суток
Фосфин PH ₃ , 6 г/м ³	100	100
Йодистый метил CH ₃ I, 6 мл	100	-
Углекислый газ CO ₂ , 55%	33	40
Контроль	-	-

туре 17 °С обеспечивает 100% гибель биоиндикатора амбарного долгоносика и трогодермы изменчивой.

4. При концентрации CH₃I 2 мл после 72 часов смертность личинок капрового жука была 100% в древесине осины и березы. Из-за высокой плотности сосны смертность личинок капрового жука была всего 55%.

5. Йодистый метил в бревне сосны, березы и осины в оболочке и без оболочки в торцевом и боковом направлении распространяется одинаково.

6. Для лучшего проникновения фосфина необходимо фумигировать лесопroduкцию в вакуумной фумигационной камере, а с использованием йодистого метила можно использовать безвакуумный метод.

7. Для обеззараживания лесоматериалов от древесных вредителей (жуков) при перевозке на дальнейшее расстояние может быть использована высокая концентрация углекислого газа до 70% при экспозиции 6 и более суток.

8. По предварительным данным, для полного уничтожения стволовой сосновой нематоды *Bursaphelenchus mucronatus* достаточно экспозиции 3 суток при концентрации фосфина 6 г/м³, йодистого метила 6 мл.

9. Действие фосфина на нематод повышается при малой дозировке — 1 г/м³ в смеси с высокой концентрацией углекислого газа — 40%.

Литература

1. Кулинич О.А., Рысс А.Ю. Древесные нематоды рода *Bursaphelenchus* на территории России. В кн. Прикладная нематология. М.: Наука, 2006, С. 162–184.

2. Кулинич О.А., Козырева Н.И. Сосновая древесная нематода *Bursaphelenchus xylophilus*: исследования в России и за рубежом. В кн.: Паразитические нематоды растений и насекомых. М.: Наука, 2004. С. 100–117.

3. Лесной карантин. Организация фитосанитарного контроля и сертификация лесоматериалов. М., 1998. С. 9.

4. Международный стандарт по фитосанитарным мерам МСФМ № 15, 2009. ОЕПР/ЕРРО.

5. Мордкович Я.Б. Древесные упаковочные материалы требуют обеззараживания. Защита и карантин растений, 2006, № 7. С. 36–37.

6. Изучение продольного и поперечного проникновения фосфина в древесину. Заключительный отчет отдела обеззараживания, 2012.

Рис. 6. Бревна сосны, зараженные сосновой стволовой нематодой *Bursaphelenchus mucronatus*, для инкубации в термокамере при температуре 25 °С

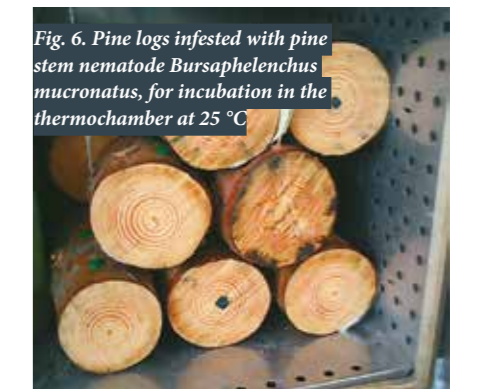


Рис. 7. Измельченный сегмент спиля бревна сосны



SCHEDULES OF TIMBER AND TIMBER PRODUCTS disinfecting against wood pests

R.K. Magomedov, Leading Researcher FGBU VNIKR's Disinfection Department

In 1983-1985 the European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO) started developing phytosanitary regulations in international trade, not only with respect to agricultural products and plants for planting, but also to timber and lumber. First, restrictions only applied to certain pests and pathogens of tree species, which were absent in the European and Mediterranean regions, and then have spread to a number of vectors of pathogens and nematodes.

Restrictions were clamped following the discovery of aggressive prototypes of wood nematodes, in particular pine nematode *Bursaphelenchus xylophilus*, at importation of softwood from the United States into a number of countries. It is noted that this type is transferred by long-horned beetles of the genus *Monochamus* and some other by the stem pests, which are widely represented in the forest fauna of Russia, while in some members-countries of EPPO, such as Great Britain, they are not known to appear. In the wood exported from Russia, there was found closely related species of nematodes – *B. mucronatus*, lifecycle of which may also be associated with the vector of the genus *Monochamus*.

Pine wilt disease caused by stem nematode is one of the most dangerous diseases of forest plantations in the world.

Harm caused by pine nematode to stem softwood is quite substantial. It's evident in Japan. In the 1970s, the total damage caused by the loss of timber per year was 2.4 million m³. The result showed that the predominant part of Russia is favourable for establishment of the pine wood nematode (Kulinich, Kozyreva, 2004).

Despite the fact that the pine wood nematode is officially considered the species that is absent from the territory of the Russian Federation, the southern part of the territory of Russia – Kras-

nodar and Stavropol regions and the Crimea – is favourable for establishment of the nematode. The annual damage at establishment of the pathogen in Russia can be 40 to 112 billion rubles.

The majority of rated nematode species of this genus in the life cycle are obligatory associated with stem insects. The insects are vectors of nematodes from tree to tree during feeding and oviposition.

In this connection increase quarantine requirements not only to the wood exported from our country, but also to the wood packing material. Packaging and fastening wood require phytosanitary regulations, because it can act as means of introduction and spread of quarantine pests. For this reason the Secretariat of the International Plant Protection Convention (IPPC) the standard was developed to recommend carrying out the marking of wood packing materials and fasteners, which replaces the phytosanitary certificates.

In accordance with the International Standard for Phytosanitary Measures ISPM № 15, "Guidelines for regulating wood packing material in international trade", disinfection of the wood packing material can be by thermal heat treatment, fumigation with methyl bromide on the set standards of treatment (ISPM № 15, 2009).

During the control measures applied to the pests of quarantine significance, including forest pests and forest products, the most effective and easy-to-use method of fumigation is the method of fumigation with methyl bromide. But since 2008 it is restricted in implementation. The situation is caused by the fact that the Russian Federation has signed the Montreal Protocol requiring ensuring the reduction and phasing out emissions into the atmosphere of ozone-depleting substances, which include methyl bromide.



Рис. 8. Выделение нематод по методу Бермана

Fig. 8. Isolation of nematodes by the Berman method

Currently, for the protection of timber against insects and nematodes specialists use various techniques: thermal treatment with hot, humid air of 85 °C and RH 50% (relative humidity), heat treatment at 56 °C, gamma irradiation, chemicals such as phosphine, ethylene oxide, sulfuryl fluoride, a number of contact preparations.

Sulfuryl fluoride (Vicane) is registered in the United States, Germany, Sweden, for the treatment of wood against pests and fungal pathogens diseases. As a fumigant for disinfecting timber, approved for use in 2015 in the Russian Federation, there is magtoksin of the "Degesh" company.

According to data of the Department of Disinfection, phosphine permeates both hardwood (birch) and the coniferous (pine) wood. Thus, as a rule, the cross ingress of gas is faster than longitudinal. The same pattern has been observed on pine for a longer time. Thus, after 4-6 hours the concentration of phosphine in penetrating transversely into the pine wood is 2-2.5 times greater than in longitudinal and a ratio takes

Pine wilt disease caused by stem nematode is one of the most dangerous diseases of forest plantations in the world.



Рис. 9. Закладка опыта

Fig. 9. Laying of the test

up to 30 hours. This can be explained by a greater density of wood of pine than of birch. When laying the tablet directly into the beam diffusion of the fumigant increased.

Mortality of bio-indicators laid in the birch and pine logs, indicate that phosphine causes their death at sufficiently long exposure.

A little-known in Russia drug methyl iodide is of great interest. It is known that methyl iodide is used as a fungicide, herbicide, insecticide, and as a disinfectant for disinfection of soil. It is concluded that methyl iodide can be regarded as an effective alternative to methyl bromide.

Ozone-depleting potential of methyl iodide is estimated as 0.016, and methyl bromide – 0.65.

Methyl iodide has following properties: the presence of odor, inflammability, sufficiently high partial pressure, that all makes it possible to use grain and timber disinfecting.

Due to the fact that the methyl iodide is a liquid with a boiling point 42.4 °C and poisonous properties appear only when the liquid evaporates, the use of this drug is more safe for professionals conducting disinfection.

Methyl iodide is widely used in the synthesis of organic compounds. Currently, methyl iodide is not registered in the RF as a fumigant.

According to studies of methyl iodide as a fumigant against a complex of pests of stocks held in 2011-2013, the following conclusions were made:

- methyl iodide with its biological effectiveness in disinfection of grain

products against pests of stocks is of interest for further study as a mean alternative to methyl bromide;

- minimum lethal dose of disinfection against complex of pests of stocks, including insect quarantine value, is 4 g of methyl iodide per 1 m³ with 48 hours of exposure (192 hour-gramm) at temperature +17-20 °C. In this fumigation schedule achieved 100% mortality of adults Araceae mites, beetles of rice weevil, small mealworms, imago of mealworm and granivorous khapra beetle of genus *Trogoderma* – Khapra beetle and warehouse beetle (*Trogoderma variabile*).

- due to the sufficient vapor pressure of methyl iodide (400 mm Hg), fumigation of timber and timber materials with the drug seems possible.

Fumigation of wood and timber in stationary conditions can be carried out under the covers of synthetic films. The covering can be of a polyethylene film 0,03-0,05 mm for single use or thicker – 0,1-0,15 mm reusable.

The main goal of the research is the study of penetrating of various fumigants into log of forest against quarantine pests of forest products, the determination of the minimum lethal dose of PCT (product of concentration on time) with the use of following fumigants for disinfection logs: methyl iodide, phosphine, magtoksin phosphine mixed with CO₂, carbon dioxide of various concentrations, the determination of fumigation schedule of pine stem nematodes (Fig. 1) and of long-horned beetles, genus *Monochamus* (Fig. 2).

Working procedure

Inside the stationary vacuum chamber with a volume of 0.85 m³ logs of pine, birch and aspen are placed (Fig. 3), in the end and side of which the test species were laid bioindicators of pests on a number of variants (Fig. 4). Into the evaporator inside the chamber the right amount of preparation is placed, the camera is closed and sealed; an internal fan is switched on for rapid evaporation of the liquid preparation for 10 minutes and counting down of exposure time starts.

The adequate quantity of the liquid iodomethyl for fumigation is calculated by the formula:

$$N = \frac{K \times V}{2.28},$$

where N – is the necessary quantity of the liquid iodomethyl, ml;

K – application rate according to the schedule, g/m³;

2,28 – the specific gravity of methyl iodide, g/sm³;

V – the volume of the room fumigated, m³.

Under stationary conditions for quick achieving of toxic fumes of methyl iodide it is added into container being fumigated through gas-evaporator.

For these purposes, the pipe-coil type of gas evaporator is used, which is a tank of water heated to 80-85 °C, with a copper coil of 2.5 m length and 6-7 mm in diameter. The evaporator should be provided with a device for measuring the water temperature (Fig. 5).

In the absence of gas-evaporator liquid methyl iodide is poured on burlap, after which it begins to evaporate.

The methyl iodide concentration is determined with the use of interferometers. The built-in photosensor converts the light into an electrical signal proportional to the gas content.

Another method to determine the methyl iodide concentration is a gas-liquid chromatography.

Previously to confirm the effectiveness of fumigation with methyl iodide of the lumber, the imago of trogodermy (*Trogoderma variabile*) was used as a biological indicator.

Tested concentration of methyl iodide is: 2, 4 and 6 ml at 16-18°C. Preparations of phosphine: fumifast, magtoksin, concentration of 3 g/m³, the phosphine mixture with carbon dioxide, the carbon dioxide – 45 and 70%.

The following pests were taken as biological indicators: pine stem nematode of the genus *Bursaphelenchus mucronatus*, storage pests, on sustainability are related to *Monochamus*, borer: adults of *Sitophilus granarium* – granary weevil, larvae *Trogoderma variabile* – trogodermy volatile and larvae *Trogoderma granarium* – Khapra beetle.

The ratio of phosphine, methyl iodide, carbon dioxide in the fumigation chamber is determined by a gas analyzer «Sensis – XXX».

Fumigation schedule by for the timber methyl iodide

Biological indicator	Consumption rate, g/m ³	Exposure, hour	Temperature, °C	PACT, hour-gramm
<i>Trogoderma variabile</i>	6	48	16	288

Table 1
Rate of mortality of bio-indicators in woody plant crops without bark

Bio-indicator	Test conditions	Position in the wood	Exposure 4 days											
			birch				pine				aspen			
			l	p	d	mortality, %	l	p	d	mortality, %	l	p	d	mortality, %
Record after 1 hour after exposure complete														
Granary weevil (<i>Sitophilus granarium</i>)	CH3I – 4 ml, exposure 72 hours, temperature 17 °C		0	0	10	100	0	0	10	100	0	0	10	100
Warehouse beetle (<i>Trogoderma variabile</i>)		Flat end	0	0	10	100	0	0	10	100	0	0	10	100
Record after 1 hour after exposure complete														
Warehouse beetle (<i>Sitophilus granarium</i>)	CH3I – 2 ml, exposure 48 hours, temperature 16 °C	Lateral	0	0	10	100	0	0	10	100	0	0	10	100
Warehouse beetle (<i>Sitophilus granarium</i>)		Flat end	0	0	10	100	0	0	10	100	0	0	10	100
Khapra beetle (<i>Trogoderma granarium</i>) (larvae)		Flat end	0	0	10	100	9	1	0	10	3	5	2	70
Record after 24 hours after exposure complete														
Khapra beetle (<i>Trogoderma granarium</i>) (larvae)		Flat end	0	0	10	100	5	1	4	55	0	0	10	100

* Note: l – live individuals; p – paralyzed; d – dead.

Prior to the experiments the freshly cut pine logs, affected by nematodes of the genus *Bursaphelenchus mucronatus*, are pre-incubated in the thermostat for reproduction (Fig. 6).

Nematodes in dried wood are very few and are in 3rd resistant to external conditions larval stage. For reproduction of nematodes pine logs were placed in an incubator at 25-26 °C for 3-4 weeks. Wood needs to be a little wet, then taken wood samples are crushed into small pieces (Fig. 7) and then the nematodes are isolated from wood by the method of Berman (Fig. 8).

After grinding of each sample, all instruments contacted with the wood (blade of pruner, jigsaw, etc.) must be sterilized by rubbing a cotton swab moistened with alcohol or in a flame of lighter (laboratory spirit lamp).

Before isolation of nematodes wood pieces are weighed in order to further count the selected nematodes per 1 g.

In experiments using logs with the following parameters were used in testing:

- pine timber length – 49.5 cm; diameter – 12 cm; log volume – 5595.5 cm³;

the depth of the end openings – 8 cm; 7.5 cm; the depth of lateral openings – 5.5 cm.

- birch logs: length – 48.5 cm; diameter – 13.5 cm; volume – 6944.4 cm³; the depth of the end openings – 7 cm and 8.5 cm; the depth of lateral openings – 7 cm.

- aspen log: length – 49.5 cm; diameter – 11.5 cm; volume – 5144.7 cm³; depth of the end openings – 7.5 cm and 9 cm; the depth of lateral openings – 5.5 cm.

Findings of investigation

At the study of the penetrating power of methyl iodide in birch, pine and aspen it was found that bio-indicators (adults and larvae) of Khapra beetle after 72-hour exposure at concentration 4-6 ml CH₃I completely died (Table 1). At lowering the concentration of CH₃I to 2 ml and exposure up to 48 hours adults of granary weevil both in face and lateral placement of the wood were dying 100%. However, larvae of the Khapra beetle behaved differently depending on the type of wood. Thus, in aspen it was 70% mortality in 10% of

pine, birch and all biological indicators were alive (Table 1).

The record conducted 24 hours after the end of exposure had shown 100% mortality of larvae in the birch and aspen, and only 55% in the pines. It can be explained by higher density of pine compared with aspen and birch.

While study of penetration of fumifast in pine and birch 100% mortality of bioindicators of granary weevil was observed at 6 days of exposure (Table 2). Unlike methyl iodide, phosphine has a weak or no effect on the larvae of Khapra beetle placed in the timber, due to their high stability.

Penetration of fumifast into a timber end is higher than in the side.

One of the alternative methods of disinfection of timber can serve fumigation with carbon dioxide at a long exposure. For this purpose, experiments on disinfection of wood were conducted at high concentrations CO₂ – 45% and 70%. At concentration of CO₂ 45% mortality of adults of granary weevil at exposure for 4 days was only 30-60%, after 5 days 60-90%, and after 6 days 80-100% depending on the type of wood, the least of all in birch (Table 3).

It is found that the minimum exposure for timber disinfection by carbon

Table 2
Rate of mortality of bio-indicators in woody plant crops without bark (lateral, flat end) (fumifast 3 g, exposure 6 days, temperature 19 °C)

Bio-indicator	Record after 1 hour after exposure complete								
	birch			pine			aspen		
	l	p	d	l	p	d	l	p	d
Warehouse beetle (<i>Sitophilus granarium</i>)	0	0	10	0	0	10	0	0	10
Control			10						

Table 3
Rate of mortality of bio-indicators in woody plant crops without bark

Bio-indicator	Test condition	Position in wood	birch				pine				aspen			
			l	p	d	mortality, %	l	p	d	mortality, %	l	p	d	mortality, %
			Exposure 4 days											
Warehouse beetle (<i>Sitophilus granarium</i>)		lateral	5	3	2	20	3	2	5	50	3	3	4	40
Control		flat face	6	1	3	30	2	3	5	50	3	1	6	60
Exposure 5 days														
Warehouse beetle (<i>Sitophilus granarium</i>)	CO ₂ – 45%, temperature 19 °C	lateral	2	-	8	80	1	2	7	70	1	1	8	80
Control		flat face	3	1	6	60	-	1	9	90	-	1	9	90
Exposure 6 days														
Warehouse beetle (<i>Sitophilus granarium</i>)		lateral	-	2	8	80	-	2	8	80	-	2	8	80
Control		flat face	-	1	9	90	-	-	10	100	-	-	10	100
Exposure 6 days														
Warehouse beetle (<i>Sitophilus granarium</i>)	CO ₂ – 70%, temperature 19 °C	lateral	0	0	10	100	0	0	10	100	0	0	10	100
Control					10	100								

dioxide must be at least 6 days at 19-20 °C. Disinfection of logs at a concentration of 70% CO₂ allowed achieving 100% mortality of bio-indicators in the log with an exposure for 6 days.

The aftereffect of fumigants on pine stem nematode after isolation from tested pine logs was determined by counting with binocular method.

Studies on the action of the fumigant of phosphine and methyl iodide on the pine stem nematode showed 100% nematode mortality compared to control, at exposure for 3 days (Table 4). Carbon dioxide in pure had weakly affected nematode, after 5 days of the fumigation the mortality was only 40%.

Conclusion

1. According to information received, methyl iodide has high ability to penetrate into the wood and could replace methyl bromide and phosphine.

2. For comparison, for the 90% mortality of the pests 96 hours phosphine exposure is required, while using me-

thyl iodide – 48 hours, thus providing 100% mortality of bio-indicators in wood.

3. Methyl iodide at low concentrations 2 ml (5 g/m³) and at exposure for 48 hours at temperature 17 °C provides 100% mortality of bio-indicator of granary weevil and volatile trogoderma.

4. At concentration of CH₃I ml after 72 hours the mortality of larvae Khapra beetle was 100% in the wood of aspen and birch. Because of the high density of the pine Khapra beetle larval mortality was only 55%.

5. Methyl iodide in a log of pine, birch and aspen in bark and without it is distributed equally in both of end and laterally directions.

6. For better penetration of phosphine it is necessary to fumigate wood products in a vacuum fumigation chamber and one can use non-vacuum technique with methyl iodide.

7. For disinfection of timber against wood pests (beetles) at long distance transportation it can be used a high con-

centration of carbon dioxide up to 70% with an exposure for 6 days or more.

8. According to preliminary data, for complete elimination of stem pine nematode *Bursaphelenchus mucronatus* it's enough to expose for 3 days at a phosphine concentration 6 g/m³, 6 ml of methyl iodide.

9. Effect of phosphine to nematodes increased in low dose – 1 mg/m³ in mixture with a high concentration of carbon dioxide – 40%.

References

- Kulinich O.A., Ryss A.U. Wood nematodes species of *Bursaphelenchus* on the territory of Russia. In the book Applied nematology. M.: Nauka, 2006, p. 162-184.
- Kulinich O.A., Kozyreva N.I. Pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus*: researches in Russia and abroad. In the book: Parasitic nematodes of plants and insects. M.: Nauka, 2004, p. 100-117.
- Forest Quarantine. Organization of phytosanitary control and certification of forest products. M., 1998, p. 9.
- International Standard for Phytosanitary Measures ISPM № 15, 2009. OEPP/EPP.
- Mordkovich Y.B. Wood packaging materials require disinfection. Plant Protection and Quarantine, 2006, № 7, p. 36-37.
- Study of the longitudinal and transverse phosphine penetrating into the wood. Final Report of the Department of disinfection, 2012.

ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРОМОНОВ как гарантия биобезопасности Российской Федерации

А.А. Кузин, заместитель начальника отдела синтеза и применения феромонов ФГБУ «ВНИИКР»

Н.М. Атанов, ведущий научный сотрудник лаборатории испытания и применения феромонов ФГБУ «ВНИИКР»

В.П. Князева, начальник организационно-аналитического отдела ФГБУ «ВНИИКР»

Многочисленное увеличение интенсивности перемещения разнообразного ассортимента растительных грузов, поставляемых на территорию Российской Федерации, указывает на необходимость поиска новых путей, обеспечивающих безопасность страны от заноса чужеземных вредоносных видов насекомых и регулярного контроля в очагах ограниченно распространенных карантинных вредителей.

Проникновение карантинных насекомых на новые территории сопряжено с угрозой необратимых изменений в структуре сельскохозяйственного производства, а также массового уничтожения аборигенной растительности, существенного изменения среды обитания и серьезных социально-экономических последствий.

Особую озабоченность вызывают поставки грузов из стран Юго-Вос-

точной Азии, Африки, Южной Америки, фитосанитарная обстановка которых мало изучена или не изучена вообще.

Анализ случаев обнаружения карантинных вредителей на территориях, где они раньше никогда не выявлялись, свидетельствует о невозможности их обнаружения традиционными методами (визуально, пищевыми приманками, светоловушками) в начальный период обоснования, когда первоначальная численность вредителей весьма незначительна. Обычно инвазивные виды фиксировались лишь спустя годы после их заноса и обоснования.

Как показывает мировая практика, контроль состояния подкарантинных объектов и материалов должен обеспечиваться максимально достоверными и оперативными методами. Одним из таких методов, который в течение последних десяти-



Fig. 1. Kuzin A.A., an honorable FGBU VNIICR's specialist

Рис. 1. А.А. Кузин, ветеран ФГБУ «ВНИИКР»

лет целенаправленно на уровне государственных целевых программ успешно используется во многих развитых странах мира, является феромонный мониторинг.

С созданием на базе ФГБУ «ВНИИКР» отдела синтеза и применения феромонов насекомых появилась возможность восстановить это ранее забытое научное направление и сделать его прорывным в плане практической реализации инструментального мониторинга карантинного фитосанитарного состоя-

Особую озабоченность вызывают поставки грузов из стран Юго-Восточной Азии, Африки, Южной Америки, фитосанитарная обстановка которых мало изучена или не изучена вообще.

ния территории Российской Федерации.

Специалистами отдела разработана и внедрена в практику «Программа по выявлению карантинных вредителей на территории РФ с использованием феромонных и цветных ловушек в зонах наибольшего фитосанитарного риска» на 2010–2015 гг. В течение этого периода специалистами отдела путем лабораторного химического синтеза получено 18 видоспецифичных феромонов карантинных вредителей, применение которых обеспечивало Россельхознадзор достоверной и оперативной информацией о фитосанитарном состоянии страны.

В соответствии с упомянутой Программой за несколько лет применено 419,5 тыс. комплектов феромонных ловушек. Объемы использования феромонных ловушек начиная с 2010 года по настоящее время возросли в 4 раза (табл. 1). Что касается зон фитосанитарного риска, то, если в 2009 году на этих территориях было обследовано всего 458,7 тыс. га,



Fig. 2. A barrier trap

Рис. 2. Барьерная ловушка



Fig. 3. A vertical trap

Рис. 3. Вертикальная ловушка

то в 2014 году обследовано 2 743 тыс. га, т.е. в 6 раз больше.

Достаточно красноречивы данные о количестве случаев обнаружения всего видового разнообразия карантинных вредителей (табл. 2). Этот показатель свидетельствует о стабильном росте числа выявленных видов. Так, если в 2009 году суммарное число случаев обнаружения составляло 28, то в 2014 году оно возросло до 3 391, в том числе вредителей лесных угодий и декоративных насаждений — 1 731 случай, или 51%, карантинных вредителей плодоносящих садов и плодовых питомников — 650 случаев, или 19,2%, что в целом соответствует фактическому увеличению объемов обследовательских мероприятий по плодовым культурам и лесным угодьям. При

использовании феромонных ловушек в зонах фитосанитарного риска впервые зафиксировано два случая обнаружения опасного карантинного вредителя — кукурузного жука диабротика в приграничных с Украиной районах Ростовской области, а также четыре случая обнаружения карантинного вредителя плодовых культур — средиземноморской плодовой мухи.

Следует отменить неуклонный рост площадей фитосанитарных зон. Другими словами, имеет место масштабное расширение очагов ограниченно распространенных карантинных вредителей (табл. 3). Из приведенных данных на примере восточной плодовой мухи, картофельной моли и персиковой плодовой мухи очевидно, что по сравнению с данными площадей по карантинным зонам, установленным в 2005 году, в 2014 году площади, заселенные

Таблица 1
Объемы проведенных обследований на выявление карантинных вредителей с помощью феромонных и цветных ловушек

Год	Применено ловушек (шт.)	Посевы кукурузы (га)	Плодовые насаждения (га)	Посадки картофеля (га)	Лесные и лесодекоративные насаждения (га)	Овощные (га)	Складские помещения (кв. м)
2009	24263	38749	39972	5362	373119	987	4957497
2010	29449	50994	127908	45456	2453979	10600	6351683
2011	79796	39927	48858	15482	1320420	7297	1865746
2012	82621	63766	92025	28591	1007786	3817	3394920
2013	109343	164671	127552	27766	543948	12904	17962688
2014	94019	36025	460337	15820	1807508	5106	1830000
Итого:	419491	394132	896652	138477	7506760	40711	36362534

Таблица 2
Карантинные вредители, выявленные с помощью феромонных и цветных ловушек

№	Вид вредного организма	Случаи выявления					
		2009 г.	2010 г.	2011 г.	2012 г.	2013 г.	2014 г.
1	Азиатская хлопковая совка	0	8	48	2	13	47
2	Американская белая бабочка	0	0	0	0	0	4
3	Восточная плодовая муха	16	87	91	41	56	166
4	Калифорнийская щитовка	6	87	76	90	74	262
5	Калифорнийский трипс	0	7	6	647	151	518
6	Кукурузный жук	0	0	1	1	0	0
7	Картофельная моль	3	11	5	13	22	152
8	Непарный шелкопряд	1	38	415	124	277	519
9	Персиковая плодовая муха	0	33	62	83	102	221
10	Сибирский шелкопряд	2	22	193	487	252	1118
11	Средиземноморская плодовая муха	0	3	0	0	0	1
12	Усачи	0	0	46	2	1	90
13	Томатная моль	0	0	1	1	7	288
	Итого:	28	296	944	1491	955	3391



Fig. 4. Pheromone quality control

Рис. 4. Контроль качества феромонов

этими вредителями, увеличилось соответственно с 10 070 га до 25 338 га (в 2,5 раза), с 2 614 га до 8 362 га (в 3,2 раза) и с 1 775 га до 138 048 га (более чем 77 раз).

В сложившейся ситуации, на наш взгляд, необходимо активизировать мероприятия по локализации и ликвидации карантинных вредителей в фитосанитарных зонах, подконтрольных региональным управлениям Россельхознадзора. Этому призвана помочь новая научно обоснованная Программа феромонного

мониторинга карантинного фитосанитарного стояния РФ, рассчитанная на три года (2016–2018 гг.).

В работе над статьей использованы материалы ежегодно издаваемого Справочника по карантинному состоянию территории РФ, а также ежегодных информационных отчетов ФГБУ «ВНИИКР» о применении феромонных и цветных ловушек на территории РФ для установления карантинного фитосанитарного состояния подкарантинных объектов. В статье использованы фотографии авторов.

Таблица 3

Площади карантинных фитосанитарных зон, установленных на территории РФ за период с 2005 по 2014 гг. (га)

Название карантинного организма	2005 г.	2006 г.	2007 г.	2008 г.	2009 г.	2010 г.	2011 г.	2012 г.	2013 г.	2014 г.
Восточная плодовая Grapholita molesta	10070	11591,7	14288,1	15519,7	9562,3	9677,6	16233,05	19153,3	22120,3	25338,1
Картофельная моль Phthorimaea operculella	2614,5	2846	2997,7	2321,7	1716	2804	6387,1	6815,5	8049,01	8361,99
Персиковая плодовая Carposina niponensis	1774,7	1548,2	1548,2	36419,1	32177	36442,3	100908,4	136872,03	122212,8	138048,3

USE OF PHEROMONES IN PROTECTING THE BIOLOGICAL Safety of the Russian Federation

Anatoly A. Kuzin, Deputy Head of FGBU VNIICR's Department for Pheromone Synthesis and Use

Nikolay M. Atanov, Leading Researcher of FGBU VNIICR's Laboratory for Pheromone Testing and Use

Valentina P. Knyazeva, Head of FGBU VNIICR's Organization and Analytics Department

Increased volumes of import of various plant commodities into the Russian Federation necessitates finding new ways of safeguarding the country from the introduction of alien pest species and of conducting regular outbreak monitoring to limit the spread of quarantine pests.

Quarantine insects enter new territories and cause irreversible changes in the structure of agricultural production and mass destruction of native vegetation, habitat alteration and serious socioeconomic consequences.

Imports of commodities from South-East Asia, Africa, and South America

are of particular concern since their phytosanitary condition is insufficiently studied or not studied at all.

Analysis of quarantine pest interceptions in areas where they have never been detected before proves that they are impossible to detect by conventional methods (visual detection, use of ed-

Table 1

Detection surveys for quarantine pests conducted using pheromone and color traps

Year	Traps used (units)	Corn (ha)	Fruit crops (ha)	Potato (ha)	Forest and ornamental plants (ha)	Vegetables (ha)	Storage facilities (sq.m)
2009	24,263	38,749	39,972	5,362	373,119	987	4,957,497
2010	29,449	50,994	127,908	45,456	2,453,979	10,600	6,351,683
2011	79,796	39,927	48,858	15,482	1,320,420	7,297	1,865,746
2012	82,621	63,766	92,025	28,591	1,007,786	3,817	3,394,920
2013	109,343	164,671	127,552	27,766	543,948	12,904	17,962,688
2014	94,019	36,025	460,337	15,820	1,807,508	5,106	1,830,000
Total:	419,491	394,132	896,652	138,477	7,506,760	40,711	36,362,534

Imports of commodities from Southeast Asia, Africa, and South America are of particular concern since their phytosanitary condition is insufficiently studied or not studied at all.

ible baits, light traps) at the initial phase of their establishment when the pest is present at low prevalence. Typically, invasive species have been reported only years after their entry and establishment.

Global experience shows that control of regulated articles should be provided using reliable and efficient methods. Pheromone monitoring is one of such methods. During the last decades, this method has been extensively and successfully used in national programs in many developed countries.

Reestablishment of the Department for synthesis and use of insect pheromones at FGBU VNIICR revived this previously neglected research area and made it a breakthrough in terms of monitoring quarantine phytosanitary

state of the territory of the Russian Federation.

The Department specialists have developed and put into practice Quarantine Pest Identification Program for the Russian Federation using pheromone and color traps in high pest risk areas for 2010–2015. During this period, the specialists of the laboratory have obtained 18 species-specific pheromones of quarantine pests by chemical synthesis. The use of these pheromones helped provide Rosselkhoz nadzor with reliable and timely information on the phytosanitary condition of the country.

Under the program, 419.5 thousand of sets of pheromone traps were used within several years. Since 2010, the number of sets used has increased four times (Table. 1). In high pest risk areas, only 458.7 thousand ha were surveyed in 2009, while 2,743 thousand ha were surveyed in 2014, i.e. the survey area increased six times.

The data on the number of interceptions of all quarantine pests species (Table. 2) are quite illustrative. These data show a steady increase in the number of interceptions. Thus, the total number of interceptions in 2009 was 28, while

in 2014 it increased to 3,391, including pests of forest and ornamental plants — 1,731 cases, or 51%; quarantine pests of fruit-bearing orchards and fruit nurseries — 650 cases, or 19.2%, which generally reflects the intensification of surveys of fruit crops and forests. In pest risk areas where pheromone traps were used, there have been two interceptions of a dangerous quarantine pest, the Western corn rootworm, which was intercepted for the first time in the parts of Rostov region bordering on Ukraine, and four interceptions of the Mediterranean fruit fly, a quarantine pest of fruit crops.

It is worth mentioning that phytosanitary areas increased in size. In other words, there is a large-scale expansion of outbreaks of limitedly distributed quarantine pests (Table. 3). The data on the Oriental fruit moth, potato tuber moth and peach fruit moth show that in 2014 as compared with 2005, the areas where these pests are prevalent have increased from 10,070 ha to 25,338 ha (by 2.5 times), 2,614 ha to 8,362 ha (by 3.2 times) and 1,775 to 138,048 ha (by more than 77 times).

With this in view, in our opinion, it is necessary to strengthen measures for

Fig. 5. A roof-shaped trap



Рис. 5. Крышевидная ловушка

Fig. 6. Delta trap; fruit pest monitoring



Рис. 6. Дельтовидная ловушка, мониторинг вредителей плодовых.

Table 2
Quarantine pests detected using pheromone and color traps

№	Pest species	Interceptions					
		2009	2010	2011	2012	2013	2014
1	Oriental leafworm moth	0	8	48	2	13	47
2	Fall webworm	0	0	0	0	0	4
3	Oriental fruit moth	16	87	91	41	56	166
4	San Jose scale	6	87	76	90	74	262
5	Western flower thrips	0	7	6	647	151	518
6	Western corn rootworm	0	0	1	1	0	0
7	Potato tuber moth	3	11	5	13	22	152
8	Gypsy moth	1	38	415	124	277	519
9	Peach fruit moth	0	33	62	83	102	221
10	Siberian moth	2	22	193	487	252	1,118
11	Mediterranean fruit fly	0	3	0	0	0	1
12	Longhorn beetle	0	0	46	2	1	90
13	Tomato moth	0	0	1	1	7	288
	Total:	28	296	944	1,491	955	3,391

Table 3
Size of quarantine areas established in the Russian Federation between 2005 and 2014 (ha)

Pest species	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Oriental fruit moth <i>Grapholita molesta</i>	10,070	11,591.7	14,288.1	15,519.7	9,562.3	9,677.6	16,233.05	19,153.3	22,120.3	25,338.1
Potato tuber moth <i>Phthorimaea operculella</i>	2,614.5	2,846	2,997.7	2,321.7	1,716	2,804	6,387.1	6,815.5	8,049.01	8,361.99
Peach fruit moth <i>Carposina niponensis</i>	1,774.7	1,548.2	1,548.2	36,419.1	32,177	36,442.3	100,908.4	136,872.03	122,212.8	138,048.3

containment and eradication of quarantine pests in phytosanitary areas subject to surveillance of Rosselkhozadzor's territorial offices. For this purpose, a new scientifically justified three-year pheromone monitoring program has

been developed for the Russian Federation to be conducted in 2016–2018.

In the present paper, we used materials annually published in the Handbook on the Quarantine Condition of the Russian Federation as well as the annual FGBU

VNIIEKR information reports on the use of pheromone and color traps in the Russian Federation for the evaluation of the phytosanitary condition of regulated articles.

The images are provided by the authors of the present paper.



ИНФОРМАЦИОННОЕ АГЕНТСТВО «FRUITNEWS»

Самые свежие новости российского рынка фруктов и овощей на русском — www.FruitNews.ru и английском — www.FruitNews.info языках.

FruitNews — крупнейший российский информационный портал, созданный для регулярного и оперативного освещения событий рынка овощей, фруктов, ягод, грибов, орехов, сухофруктов и продуктов их переработки.

Аудитория FruitNews — специалисты рынка из России, Украины, Казахстана, Белоруссии и других стран Восточной Европы. Среднее количество посетителей сайта ~ 60 тысяч человек в месяц.

КОНТАКТЫ

Сайт: www.fruitnews.ru, www.fruitnews.info
E-mail: info@fruitnews.ru
Телефон: +7 (495) 729-3080
Twitter: @fruitnewsru
Facebook: www.facebook.com/fruitnews.ru

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. Резюме (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. Иллюстрированные материалы (фото, картинки) допускаются хорошей контрастности, с разрешением не ниже 300 точек на дюйм (300 dpi), оригиналы прикладываются к статье отдельными файлами в формате tiff или jpeg (Рисунки, 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 и «вмещаться» в печатное поле страницы. Название таблицы – над таблицей; название рисунка/графика – под рисунком/графиком.

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

Адрес: 105122, г. Москва, Щелковское шоссе, д. 13, офис 402
Контактное лицо: Бададгулова Юлиана Георгиевна
Телефон: +7 915 477 78 36



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 EUPHRESKO 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 23 филиала на территории Российской Федерации

Россия, 140150, Московская область, Раменский район,
пос. Быково, ул. Пограничная, д. 32

Тел./факс: (499) 271-38-24

e-mail: vniikr@mail.ru, <http://www.vniikr.ru>