



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

В Е С Т Н И К ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

PLANT PROTECTION NEWS

2025 TOM 108 ВЫПУСК 3
 VOLUME ISSUE



Санкт-Петербург
St. Petersburg, Russia

Для оформления обложки использованы фотографии имаго и личинки *Cryptolaemus montrouzieri* к статье Ю.Б. Поликарповой и Е.А. Варфоломеевой (стр. 149–156)
(© С.Г. Удалов, ВИЗР)

For the cover design, the photos of *Cryptolaemus montrouzieri* adult and larva for the article by Yu.B. Polikarpova and E.A. Varfolomeeva (p. 149–156) were used
(© S.G. Udalov, VIZR)

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

All-Russian Institute of Plant Protection

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

В Е С Т Н И К

ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

PLANT PROTECTION NEWS

2025 ТОМ
VOLUME **108** ВЫПУСК
ISSUE **3**

Санкт-Петербург
St. Petersburg, Russia
2025

ВЕСТНИК ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

Научно-теоретический рецензируемый журнал

Основан в 1939 г.

Издание возобновлено в 1999 г.

Учредитель: Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений (ВИЗР)

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

Главный редактор: В.А. Павлюшин

Зам. гл. редактора: И.А. Белоусов, Ю.С. Токарев

Ответственный секретарь: А.Г. Конончук

Технический секретарь: С.Г. Удалов

Редактор англоязычных текстов: Токарев Ю.С.

Журнал «Вестник защиты растений» (ISSN: 1727-1320) включен в «Перечень изданий ВАК РФ» по следующим научным специальностям и отраслям науки:

1.5.14 – Энтомология (биологические науки),

1.5.18 – Микология (биологические и сельскохозяйственные науки),

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

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

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

Индексируется в RSCI & Scopus, входит в «Белый Список» –

Единый государственный перечень научных изданий

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

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

Белоусов И.А., кбн, ВИЗР

Белякова Н.А., кбн, ВИЗР

Власов Д.Ю., дбн, СПбГУ

Ганнибал Ф.Б., кбн, ВИЗР

Гричанов И.Я., дбн, ВИЗР

Дзянь Синьфу, профессор, КНР

Долженко В.И., дсxn, академик РАН, ВИЗР

Егоров Е.А., дэн, академик РАН, СКФНЦСив

Игнатов А.Н., дбн, РУДН

Косман Е., профессор, Израиль

Каракотов С.Д., дхн, академик РАН,

ЗАО “Щелково Агрохим”

Краснов Ч., PhD, Израиль

Кюссон М., PhD, Канада

Лаврищев А.В., дсxn, СПбГАУ

Лаптев А.Б., дбн, ООО “ИЦЗР”

Лунева Н.Н., дбн, ВИЗР

Лысов А.К., ктн, ВИЗР

Мавроди Д., профессор, США

Мехрабади М., PhD, Иран

Намятова А.А., кбн, ЗИН

Новикова И.И., дбн, ВИЗР

Павлюшин В.А., дбн, академик РАН, ВИЗР

Радченко Е.Е., дбн, ВИР

Савченко И.В., дбн, академик РАН, ВИЛАР

Санин С.С., дбн, академик РАН, ВНИИФ

Сидельников Н.И., дсxn, академик РАН, ВИЛАР

Синев С.Ю., дбн, ЗИН

Соколова Ю.Я., дбн, США

Сорока С.В., дсxn, профессор, Белоруссия

Сухорученко Г.И., дсxn, ВИЗР

Ули-Маттила Т., профессор, Финляндия

Токарев Ю.С., дбн, ВИЗР

Упадышев М.Т., дбн, член-корреспондент РАН,

РГАУ-МСХА

Фролов А.Н., дбн, ВИЗР

Хлесткина Е.К., дбн, ВИР

Шамшев И.В., кбн, ЗИН

Шпанев А.М., дбн, АФИ

Ответственные редакторы выпуска:

Ганнибал Ф.Б., Токарев Ю.С.

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

Email: vestnik@vizr.spb.ru

<https://plantprotect.ru>



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

СОДЕРЖАНИЕ / CONTENT

Мини-обзоры / Mini-reviews**Особенности взаимоотношений паразита и хозяина в патосистеме****“*Triticum aestivum* – *Pyrenophora tritici-repentis*”****Н.В. Мироненко**

Features of the relationship between the parasite and the host in the pathosystem

“*Triticum aestivum* – *Pyrenophora tritici-repentis*”

N.V. Mironenko 132

Полнотекстовые статьи / Full-text articles**Экзометаболиты базидиомицетов в качестве средств для повышения устойчивости пшеницы к токсическому воздействию алюминия****Д.В. Попыванов, А.Е. Агеева, М.И. Мулина**

Exometabolites of basidiomycetes as a means to increase wheat resistance to toxic action of aluminum

D.V. Popyvanov, A.E. Ageeva, M.I. Mulina 141

Новый подход к применению кокцидофага *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera: Coccinellidae) в оранжереях ботанических садов**Ю.Б. Поликарпова, Е.А. Варфоломеева**A novel approach of using *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera: Coccinellidae) in greenhouses of botanical gardens

Yu.B. Polikarpova, E.A. Varfolomeeva 149

Salivary gland alpha-amylases retain activity in wheat grains damaged by *Eurygaster* (Heteroptera: Scutelleridae) Sunn bugs**А.В. Конарев, А.В. Капусткина**Альфа-амилазы слюнных желез хлебных клопов рода *Eurygaster* сохраняют активность в поврежденных зернах пшеницы

Ал.В. Конарев, А.В. Капусткина 157

Endophytic fungus *Beauveria bassiana* induces antioxidant enzyme activities and enhances the growth of *Rhizoctonia solani*-infected potato plants**О.Г. Томилова, Н.П. Толоконникова, М.В. Тюрин, Н.А. Крюкова**Эндифитный гриб *Beauveria bassiana* индуцирует активность антиоксидантных ферментов и усиливает рост растений картофеля, инфицированного *Rhizoctonia solani*

О.Г. Томилова, Н.П. Толоконникова, М.В. Тюрин, Н.А. Крюкова 164

The use of integrated methods for controlling the tobacco thrips *Thrips tabaci* on eggplant under greenhouse conditions**Д. Ундармаа, А. Сийриймаа, З. Алтантсэцэг**Использование интегрированных методов для борьбы с табачным трипсом *Thrips tabaci* на баклажане в условиях защищенного грунта

Д. Ундармаа, А. Сийриймаа, З. Алтантсэцэг 175

Monitoring of Okra Yellow Vein Mosaic Virus in the Sargodha Division, Pakistan**М.А. Шаббир, М. Мубен, Я. Ифтихар, М.А. Зешан, А. Саджид**

Мониторинг вируса жёлтой жилковой мозаики бамии в округе Сардогха, Пакистан

М.А. Шаббир, М. Мубин, Я. Ифтихар, М.А. Зешан, А. Саджид 182

Краткие сообщения / Short Communications**Поврежденность зерна озимой тритикале растительоядными клопами в Ленинградской области****А.М. Шпанев, А.В. Капусткина**

Damage to winter triticale grain by herbivorous bugs in the Leningrad region

А.М. Shpanev, A.V. Kapustkina 190

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОТНОШЕНИЙ ПАРАЗИТА И ХОЗЯИНА В ПАТОСИСТЕМЕ “*TRITICUM AESTIVUM* – *PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS*”

Н.В. Мироненко

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

e-mail: nina2601mir@mail.ru

Желтая пятнистость – широко распространенная болезнь пшеницы, относится к группе опасных, вызывает потери урожая и ухудшает качество зерна. Возбудителем болезни является аскомицетный гриб *Pyrenophora tritici-repentis*. В последние три десятилетия активно изучаются генетические механизмы взаимоотношений в патосистеме «*Triticum aestivum* – *Pyrenophora tritici-repentis*». Взаимодействие генов паразита и растения-хозяина происходит по инверсному типу, в отличие от классического взаимодействия «по Флору». В обзоре рассмотрена существующая на данный момент система классификации изолятов *P. tritici-repentis* по признаку вирулентности на сортах/линиях дифференциаторах пшеницы – рас и ее несоответствие результатам молекулярной диагностики генов *ToxA* и *ToxB*. Приведены данные по генетике устойчивости мягкой пшеницы к возбудителю желтой пятнистости и примеры взаимодействий генов восприимчивости пшеницы с основными факторами патогенности *P. tritici-repentis*. На сложность патосистемы «*Triticum aestivum* – *Pyrenophora tritici-repentis*» оказывают существенное влияние не только расо-специфичные взаимодействия между грибными некротрофными эффекторами и генами восприимчивости хозяина по инверсному типу ген-на-ген, но и наличие множества локусов количественных признаков, ассоциируемых с устойчивостью к нескольким расам.

Ключевые слова: желтая пятнистость, пшеница, расы, фитотоксины, гены эффекторов, гены устойчивости, QTL, *ToxA*, *ToxB*, *ToxC*, *Tsn1*, *Tsc1*, *Tsc2*

Поступила в редакцию: 20.08.2025

Принята к печати: 15.10.2025

Введение

Желтая пятнистость листьев относится к наиболее распространенным и вредоносным болезням пшеницы во всех регионах культивирования пшеницы. Симптомы болезни проявляются в виде некротических и хлоротичных пятен на поверхности листа, что снижает способность растения к фотосинтезу и приводит, в конечном счете, к снижению урожая и ухудшению качества зерна (Ramos et al., 2024).

Ранее желтая пятнистость пшеницы была мало заметной болезнью, не привлекающей к себе особого внимания. Только в семидесятые годы прошлого века в Северной Америке и в Австралии, и в восьмидесятые в Европе и России была отмечена экономическая значимость этой болезни. Впервые желтая пятнистость была обнаружена в 1985 году на Северном Кавказе (Гранин и др., 1989). В начале 90-х годов прошлого столетия болезнь распространилась по всей территории Краснодарского и Ставропольского краев и составила 37 % среди других листовых пятнистостей (Андропова, 2001), а в 2006 году распространенность болезни на отдельных полях в Северо-Кавказском регионе достигла 100 % (Кремнева, Волкова, 2007).

В среднем желтая пятнистость вызывает потери урожая в размере 5–10 %, но на восприимчивых сортах при условиях, благоприятных для развития болезни, т.е. в эпифитотийные годы они могут превышать 50 % (Rees et al., 1982; De Wolf et al., 1998), доходя до 60 % (Rees, Platz, 1979; Hirrell et al., 1990).

Возбудителем болезни является гомоталличный аскомицетный гриб *Pyrenophora tritici-repentis*. Кроме обычной пятнистости листьев *P. tritici-repentis* вызывает

симптомы розовости семян и бурой пятнистости чешуек и остей (Schilder, Bergstrom, 1994; Fernandez et al., 1998).

Существенными факторами внезапного распространения болезни являются широкое культивирование восприимчивых сортов и щадящая обработка почвы, что способствует накоплению первичного инокулюма в виде псевдотелиев гриба (Михайлова и др., 2015).

К основным факторам вирулентности *P. tritici-repentis* относят хозяин-специфичные токсины – HST, теперь объединенные термином «некротрофные эффекторы» (NE). У *P. tritici-repentis* известны два белковых NE – Ptr ToxA и Ptr ToxB, которые детерминированы генами *ToxA* и *ToxB*, и один частично охарактеризованный NE Ptr ToxC небелковой природы, генетическая детерминация которого до сих пор изучается (Effertz et al., 2002).

Патосистема «пшеница – *P. tritici-repentis*» всесторонне активно изучается последние 30 лет (обзоры: Faris et al., 2013; Friesen, Faris, 2021). Разработана мультиплексная система ПЦР диагностики генов *ToxA* и *ToxB* (Andrie et al., 2007). Продукты этих генов узнаются продуктами генов восприимчивости *Tsn1* и *Tsc2*, на которые также разработаны молекулярные маркеры (Abeysekara et al., 2010; Faris et al., 2010). Вид патогена можно идентифицировать с помощью ПЦР с видоспецифичными праймерами (Antoni et al., 2010) и праймерами, специфичными к MAT-локусу *P. tritici-repentis* (Lepoint et al., 2010). Генетическая детерминация токсина Ptr ToxC находится в стадии изучения (Shi et al., 2022).

Ген *ToxA* приобретен грибом *P. tritici-repentis* в результате горизонтального переноса гена (ГПГ) из

генома другого патогена пшеницы – гриба *Parastagonospora nodorum* (Friesen et al., 2006), тогда как «собственный» ген *ToxB* представлен в геноме *Pyrenophora tritici-repentis* несколькими копиями (Martinez et al., 2004). На микроэволюционные процессы фитопатогенных грибов влияют их взаимоотношения с растением-хозяином. Патосистема «пшеница – *P. tritici-repentis*» работает по принципу инверсной системы «ген-на-ген»: каждый индивидуальный токсин узнается продуктом соответствующего гена растения-хозяина, что выражается в восприимчивости растения и проявлении болезни (Wolpert et al., 2002; Strelkov, Lamari, 2003). Таким образом, инверсный тип взаимодействия

патогена и растения заключается в том, что индуцируемые патогеном NE, атакуют защитные пути хозяина, что приводит к восприимчивости растения (Liu et al., 2009; Friesen, Faris, 2010). Очевидно, что восприимчивость к конкретному токсину кодируется доминантным аллелем гена, а устойчивость – рецессивным. Понимание механизмов взаимоотношений паразита и хозяина в патосистеме позволяет прогнозировать вероятность развития эпифитотийных ситуаций и разрабатывать стратегии эффективной защиты растений от болезней, что особенно актуально в условиях изменения климата и высокой вероятности заноса инвазивных видов патогенов.

Расовый состав популяций *P. tritici-repentis*

Из трех известных NE, которые продуцирует *P. tritici-repentis*, один индуцирует некроз – Ptr ToxA и два токсина – Ptr ToxB и Ptr ToxC индуцируют хлороз листьев пшеницы (см. обзоры Singh et al., 2010; Faris et al., 2013). На основании способности изолятов *P. tritici-repentis* индуцировать те или иные симптомы на сортах/линиях пшеницы (Glenlea, 6B662, 6B365), дифференцирующих наличие каждого из трех токсинов, предложена система классификации рас патогена. Известно восемь рас *P. tritici-repentis*: расы 2, 3 и 5 продуцируют по одному токсину – Ptr ToxA, Ptr ToxC и Ptr ToxB, соответственно, расы 1, 6 и 7 продуцируют по два токсина – Ptr ToxA/Ptr ToxC, Ptr ToxB/Ptr ToxC и Ptr ToxA/Ptr ToxB; раса 8 – все три токсина, а раса 4 – ни одного и считается авирулентной к мягкой пшенице (Lamari et al., 2003). В разных регионах мира расовый состав популяций патогена различается. Данная система классификации рас патогена позволяет сравнивать популяции различного географического происхождения,

выделять доминирующие расы и следить за динамикой изменений расового состава популяций. Однако предложенная система классификации рас нуждается в совершенствовании, т.к. с ее помощью нельзя идентифицировать все изоляты гриба. С 2003 года были отмечены изоляты, которые невозможно было отнести к определенной расе (Lamari et al., 2003; Benslimane et al., 2011). С другой стороны, накопились факты обнаружения изолятов, отнесенных к конкретной расе, но не получивших молекулярного подтверждения наличия в этих изолятах соответствующих генов-эффекторов – *ToxA* или *ToxB* (Мироненко и др., 2019; Мироненко и др., 2024а; Ali et al., 2010; Leisova-Svobodova et al., 2010; Guo et al., 2018; Мироненко, Коваленко, 2018; Kamel et al., 2019). Такие изоляты названы атипичными, в них предполагают наличие иных еще неизвестных эффекторов, проявляющих те же симптомы, что и Ptr ToxA и Ptr ToxB.

Генетика устойчивости пшеницы к возбудителю желтой пятнистости

Гены качественной устойчивости

Идентифицированы три доминантных гена чувствительности пшеницы к трем HST возбудителя желтой пятнистости: *Tsc1* к Ptr ToxC (Effertz et al., 2002), *Tsc2* к Ptr ToxB (Orolaza et al., 1995; Friesen and Faris, 2004; Abeysekara et al., 2010) и *Tsn1* к Ptr ToxA (Faris et al., 1996; Stock et al., 1996). Еще в 1987 году Tomas и Bockus установили, что между чувствительностью к HST и восприимчивостью к возбудителю желтой пятнистости существует сильная корреляция, т.е. эти признаки контролируются одними и теми же генами. В ранних работах и до сих пор гены устойчивости к *P. tritici-repentis* называют рецессивными генами, хотя правильнее было бы писать этот термин в кавычках. Рецессивное наследование устойчивости к желтой пятнистости обусловлено рецессивными аллелями генов, тогда как восприимчивость к болезни контролируется доминантными аллелями.

В 2007 году было решено обозначать качественные гены устойчивости к *P. tritici-repentis*, идентифицированные в искусственных условиях в результате заражения конидиями гриба, как *Tsr* (tan spot resistance), а гены, связанные с реакцией на культуральные фильтраты, содержащие HST, или чистые токсины, обозначать как гены чувствительности к этим токсинам: *Tsc* (tan spot chlorosis) и *Tsn* (tan spot necrosis) в зависимости от симптома, вызываемого HST (цит. по Faris et al., 2013). Доминантные аллели генов детерминировали признаки чувствительности

к токсинам и восприимчивости к возбудителю желтой пятнистости, а рецессивные аллели контролировали альтернативный признак – нечувствительность к действию токсинов и устойчивость к возбудителю.

Согласно «Каталогу символов генов» идентифицировано восемь основных «рецессивных генов устойчивости» пшеницы к желтой пятнистости: *Tsrl* (синоним *Tsn1*), *Tsr2*, *Tsr3*, *Tsr4*, *Tsr5*, *Tsr6* (синоним *Tsc2*), *TsrHar* и *TsrAri* (McIntosh et al., 2013). Гены устойчивости *Tsrl* к расе 2 и *Tsr6* к расе 5 были картированы на хромосомах 5BL и 2BS, соответственно (Abeysekara et al., 2010; Singh et al., 2010), ген *TsrHar* – на хромосоме 3B (Tadesse et al., 2008), *TsrAri* – 3A (Tadesse et al., 2010), *Tsr2* и *Tsr5* – 3B, *Tsr3* – 3D, *Tsr4* – 3A (Faris et al., 2013). На сегодняшний день к этому списку можно добавить доминантный ген *Tsr7*, отвечающий за расо-неспецифическую устойчивость тетраплоидных и гексаплоидных пшениц к расам *P. tritici-repentis* и расположенный на хромосоме 3B (Faris et al., 2020). Ген *Tsc1* не получил синонимичного обозначения *Tsr* (Faris et al., 2013).

В последние два десятилетия проводится активная работа по улучшению селекции пшеницы на устойчивость к возбудителю желтой пятнистости. Генетический контроль болезни является экономически более выгодным и экологически безопасным подходом борьбы с болезнями растений по сравнению с химическими методами.

Для получения в селекционном процессе сортов с улучшенной устойчивостью требуется зародышевая плазма, устойчивая к *P. tritici-repentis*, знание генетических детерминантов устойчивости и молекулярные маркеры, ассоциированные с локусами устойчивости. Взаимодействия *ToxA* – *Tsn1* и *ToxC* – *Tsc1* считаются наиболее важными для развития желтой пятнистости у озимой пшеницы, в отличие от исследований системы взаимодействия *ToxB* – *Tsc2*, что связано с отсутствием в основных зерносеющих регионах мира изолятов патогена с геном *ToxB*.

Рассмотрим три примера взаимодействий продуктов генов восприимчивости пшеницы с основными факторами патогенности *P. tritici-repentis*.

Tsn1* – *Ptr ToxA

Молекулярная основа, лежащая в основе некроза, вызываемого токсином PtrToxA, и взаимодействием продуктов генов *ToxA* и *Tsn1*, остается неизвестной. В работе Manning и Ciuffetti (2005) было показано, что Ptr ToxA импортируется в клетку в пшеничных линиях, несущих доминантный аллель *Tsn1*, но не в линиях генотипа *tsn1tsn1*. В 2010 году ген *Tsn1* был клонирован и охарактеризован (Faris et al., 2010). Показано, что *Tsn1* локализован на пшеничной хромосоме 5B, состоит из восьми экзонов и кодирует белок с тремя доменами: серин/треониновой протеинкиназы (S/TPK), нуклеотидного связывания (NBS) и лейцин-богатых повторов (LRR), таким образом демонстрируя сходство с известными генами устойчивости. Показано, что все три домена кодируемого белка необходимы для чувствительности к токсину и, следовательно, восприимчивости к болезни (Faris et al., 2010).

Белок, кодируемый геном *Tsn1*, не содержит трансмембранных доменов и, вероятно, находится внутри клетки. Это обстоятельство и тот факт, что белок Tsn1, по-видимому, не взаимодействует напрямую с токсином Ptr ToxA, позволяют предположить, что белок Tsn1, скорее всего, не является рецептором Ptr ToxA (Faris et al., 2010). Недавно было показано, что Ptr ToxA взаимодействует в апопластическом пространстве клетки с интегральным трансмембранным белком TaNHL10 (Dagvadorj et al., 2022).

Согласно типу взаимоотношения генов *Tsn1-ToxA* в патосистеме «мягкая пшеница – *P. tritici-repentis*», изоляты *P. tritici-repentis*, имеющие ген *ToxA*, должны поражать сорта, несущие доминантный аллель *Tsn1* (Strelkov, Lamari, 2003; Ciuffetti et al., 2010).

После того, как ген *Tsn1* был клонирован и на его доминантный аллель подобран маркер *Xfcp623* (Faris et al., 2010), этот маркер стали использовать для выявления образцов *Tsn1*⁺ с целью их последующей элиминации из селекционного процесса (Faris et al., 2010; 2012; Kokhmetova et al., 2018).

Маркер *Xfcp623*, локализован в 5-ом интроне гена (Faris et al., 2010), другой маркер *TaTsn1-2* включает 36 нуклеотидов 7-го экзона, весь 7-ой интрон и часть 8-го экзона (Nuzhnaya et al., 2023). Этот маркер также можно использовать для оценки аллельного состояния гена *Tsn1* с такой же эффективностью, что и *Xfcp623* (Мироненко, неопубликованные данные).

Устойчивость образцов с генотипом *Tsn1Tsn1*, обнаруженных нами при скрининге современных сортов мягкой пшеницы, инокулированных изолятами ToxA+ *P. tritici-repentis* (Мироненко и др., 2024б) может быть вызвана

нарушениями экспрессии *Tsn1*, или внутригенными мутациями. Наличие генов расо-неспецифической устойчивости, например, *Tsr7* также может объяснять устойчивость образцов генотипа *Tsn1Tsn1* к изолятам ToxA+ *P. tritici-repentis*.

Уникальность взаимоотношений генов *Tsn1* и *ToxA* и их продуктов в том, что NE PtrToxA может присутствовать у изолятов трех видов возбудителей листовых пятнистостей пшеницы – *Pyrenophora tritici-repentis*, *Parastagonospora nodorum* (ранее назывался *Stagonospora nodorum* или *Septoria nodorum*) и *Bipolaris sorokiniana*. Ген *ToxA*, кодирующий токсин Ptr ToxA сперва был обнаружен в изолятах *Pyrenophora tritici-repentis*, а затем у *Parastagonospora nodorum*. На основании выявленного большого аллельного разнообразия гена *ToxA* в изолятах *Parastagonospora nodorum* – 15 гаплотипов (H1-H15), и консервативности единственного гаплотипа *ToxA* у *Pyrenophora tritici-repentis* – *ToxA1*, согласно последней предложенной номенклатуре гаплотипов гена *ToxA* (Aboukhaddour et al., 2023), был сделан вывод о ГПГ *ToxA* от *Parastagonospora nodorum* к *Pyrenophora tritici-repentis* (Friesen et al., 2006). Позже был доказан факт ГПГ *ToxA* от *Parastagonospora nodorum* к возбудителю темно-бурой пятнистости *B. sorokiniana* (McDonald et al., 2017). Таким образом, ген *Tsn1* кодирует восприимчивость к токсину Ptr ToxA сразу трех видов возбудителей.

Не исключено, что в ближайшее время этот список пополнится, например, возбудителем альтернариоза, поскольку факт переноса гена *ToxA* также доказан для представителя рода *Alternaria* – почвенного гриба *A. ventricosa* (Liu et al., 2025). Также кандидатами на «приобретение» гена *ToxA* посредством ГПГ могут быть грибы вида *Pyrenophora teres*. Изоляты двух форм фитопатогенного гриба, возбудителя сетчатой пятнистости ячменя, *P. teres* – *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata* встречаются на пшенице, но симптомы, вызываемые ими, маскируются под симптомы других патогенов пшеницы. Нами были идентифицированы изоляты *P. teres* f. *teres*, выделенные из пораженных листьев пшеницы (Mikhailova et al., 2010). Новым патогеном пшеницы уже называют гриб *P. teres* f. *maculata*, который был обнаружен в 2019 году на листьях пшеницы с симптомами сходными с симптомами желтой пятнистости, вызываемой *P. tritici-repentis* в Аргентине (Perello et al., 2019). Ранее, в 2010 году в популяциях *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata*, обитающих на ячмене и пшенице в центральной Европе, с большой частотой были выявлены изоляты несущие ген *ToxA* (Leisova-Svobodova et al., 2010).

Благодаря распространению гена *ToxA* в изолятах трех, а, возможно, и большего числа, видов гемибиотрофных патогенов, эффективной стратегией для селекции устойчивых к болезням сортов признано устранение функциональных аллелей *Tsn1*, так называемый негативный отбор с помощью молекулярных маркеров. Были разработаны маркеры *Tsn1* для конкурентной аллель-специфической ПЦР (KASP) к фланкирующим синтетным участкам сборок генома образцов пшеницы *Tsn1*[–] и *Tsn1*⁺. В процессе тестирования линий *Tsn1*⁺ с аллелями маркеров чувствительности, показавших нечувствительность к токсину, было показано отсутствие транскрипции гена или наличие точковых мутаций. А у двух линий был выявлен второй

локус, контролирующий чувствительность к Ptr ToxA на хромосоме 2B, который был обозначен как *Tsn1-B2* (Running et al., 2025).

В настоящее время доказано, что взаимодействие *Tsn1* – PtrToxA не связано с развитием желтой пятнистости у тетраплоидной пшеницы (Chu et al. 2010; Viridi et al., 2016; Galagedara et al., 2020). У гексаплоидной пшеницы, напротив, роль взаимодействия *Tsn1*–PtrToxA может варьировать от незначительной до весьма значимой в зависимости от генетического фона хозяина (Faris et al., 2013).

***Tsc2* – Ptr ToxB**

Ген *Tsc2*, контролирует чувствительность к хлороз-индуцирующему белковому токсину Ptr ToxB, расположен на коротком плече хромосомы 2B (Friesen, Faris, 2004; Abeyssekara et al., 2010). Для диагностики гена *Tsc2* в образцах пшеницы разработан SSR маркер XBE444541, который предлагается использовать для MAS (Abeyssekara et al., 2010). Тонкое картирование локуса *Tsc2* позволило разработать тесно сцепленные с этим локусом SNP-маркеры устойчивости пшеницы к хлороз-индуцирующему токсину Ptr ToxB (Corsi et al., 2020). Авторами предложены аллель-специфичные KASP праймеры для SNP BS00072620_51, которые были использованы для генотипирования 47 элитных сортов озимой пшеницы. Из них 39 оказались гомозиготами А:А по аллелю устойчивости, а 8 были G:G – гомозиготами по аллелю чувствительности к токсину Ptr ToxB, что полностью соответствовало результатам фенотипирования образцов по устойчивости к токсину (Corsi et al., 2020).

Изоляты *P. tritici-repentis*, несущие ген *ToxB*, во всем мире встречаются крайне редко. Впервые ген *ToxB* был обнаружен в изолятах высоко агрессивной расы 5 из восточного Алжира (Lamari et al., 1995). В 2001 году, ген *ToxB* из штамма DW7 из Северной Дакоты был клонирован и охарактеризован (Martinez et al., 2001; 2004).

До сих пор, несмотря на разработанные системы диагностики гена *ToxB* (Martinez et al., 2001; Andrie et al., 2007) и картирование гена восприимчивости *Tsc2* к хлороз-индуцирующему токсину Ptr ToxB (Abeyssekara et al., 2010; Corsi et al., 2020), взаимодействие продуктов генов *Tsc2* – *ToxB* изучено в меньшей степени, чем *Tsn1* – *ToxA*. Это объясняется тем, что подавляющее большинство сортов пшеницы устойчивы к токсину Ptr ToxB. Доля восприимчивых среди канадских сортов составляет 30% (Tran et al., 2017), среди австралийских – 4% (See et al., 2019), европейских – 7% (Corsi et al., 2020). Низкая частота встречаемости доминантных аллелей восприимчивости гена *Tsc2* в конкретном регионе коррелирует с встречаемостью *P. tritici-repentis* изолятов, несущих ген *ToxB*. Например, *ToxB* отсутствовал в изолятах из Австралии (скрининг 119 изолятов, Antoni et al., 2010), России (скрининг 225 изолятов, Мироненко и др., 2019, 2024а). В Америке изоляты *ToxB*⁺ встречаются очень редко (Aboukhaddour et al., 2013).

***Tsc1* – Ptr ToxC**

Образцы пшеницы, несущие ген восприимчивости *Tsc1*, расположенный на коротком плече хромосомы пшеницы 1A (Effertz et al., 2002; Strelkov, Lamari, 2003), чувствительны к продуцируемому грибом NE Ptr ToxC, индуцирующему хлороз на листьях растений. В отличие от двух предыдущих систем взаимодействия генов, в

которых эффекторы Ptr ToxA и Ptr ToxB являются белками и кодируются отдельными генами *ToxA* и *ToxB*, эффектор Ptr ToxC представляет из себя малую неионную, полярную молекулу и генетическая детерминация этого эффектора до сих пор изучается.

Генетический локус, контролирующий синтез Ptr ToxC, названный *ToxC*, был картирован в субтеломерной области размером 173 кб на 2-й хромосоме *P. tritici-repentis* с использованием сегрегирующих двуродительских популяций, секвенирования генома и анализа ассоциаций (Shi et al., 2022). Функциональная проверка показала, что картированный ген необходим, но недостаточен для продукции Ptr ToxC, поэтому его обозначили как *ToxC1*. Этот ген кодирует консервативный гипотетический белок, который экспрессируется в патогене во время заражения пшеницы. Авторы предположили, что конечный продукт PtrToxC является вторичным метаболитом, результатом каскада биосинтетических путей (Shi et al., 2022). Идентификация *ToxC1* является важным шагом к выявлению биосинтетического пути PtrToxC и изучению его молекулярных взаимодействий с геном восприимчивости *Tsc1*.

Ген, контролирующий признак проявления симптома хлороза на листьях пшеницы в ответ на инокуляцию изолятами *P. tritici-repentis*, продуцирующими токсин Ptr ToxC, был картирован на коротком плече пшеничной хромосомы 1A. Всего в референсном геноме сорта Chinese Spring идентифицировано 9 генов-кандидатов, семь из них имели признаки генов устойчивости к Ptr ToxC (Effertz et al., 2002; Running et al., 2022). Для клонирования гена *Tsc1* на основе картирования (map-based cloning) необходимо продолжение исследований.

Гены количественной устойчивости

Кроме доминантных генов восприимчивости пшеницы к возбудителю желтой пятнистости (*Tsn1*, *Tsc1* и *Tsc2*), которые еще можно назвать рецессивными качественными генами устойчивости, идентифицированы локусы количественных признаков – QTL (quantitative trait loci), отвечающие как за расовую, так и расо-неспецифическую устойчивость пшеницы к желтой пятнистости (см. обзор Faris et al., 2013).

Первые два QTL – *QTs.fcu-1BS* и *QTs.fcu-3BL*, ассоциированные с устойчивостью к расам 1, 2, 3 и 5 *P. tritici-repentis*, были идентифицированы 20 лет назад (Faris, Friesen, 2005).

В настоящее время известно более 100 QTL, ассоциированных с устойчивостью к *P. tritici-repentis* как в гексаплоидных, так и тетраплоидных сортах пшеницы (Liu et al., 2020). Сообщалось, что все хромосомы гексаплоидной пшеницы, чей геном, как известно, состоит из трех геномов А, В и D, каждый из которых имеет 7 хромосом, содержат QTL, обуславливающие устойчивость к желтой пятнистости, за исключением 4В и 6D хромосом (Faris et al., 2013; Patel et al., 2013; Kollers et al., 2014). Показано, что некоторые QTL ассоциированы с устойчивостью к нескольким расам (Faris, Friesen, 2005; Chu et al., 2008; Kariyawasam et al., 2016).

Локус количественной устойчивости *QTs.fcu-3BL* на длинном плече хромосомы 3В, ассоциирован с устойчивостью к расам 1–3 и 5 *P. tritici-repentis* в бразильском сорте яровой пшеницы BR34 (Faris, Friesen, 2005) и в американском сорте яровой пшеницы Penawawa (Kariyawasam et al.,

2016). В обоих случаях *QTLs.fcu-3BL* обеспечил хорошие уровни устойчивости ко всем известным расам *P. tritici-repentis*. В 2019 году был идентифицирован доминантный ген расо-неспецифичной устойчивости к *P. tritici-repentis* *Tsr7* в образцах мягкой и твердой пшеницы (Faris et al., 2020). С помощью детального картирования было показано, что локус совпадает с расо-неспецифическим QTL, ранее идентифицированным в гексаплоидных сортах пшеницы BR34 и Renawawa.

Присутствие «большого» доминантного гена *Tsr7* может ингибировать проникновение и распространение патогена в ткани растения на ранних стадиях заражения, что делает невозможной доставку фитотоксина Ptr ToxA в клетки растения-хозяина. В таком случае растение проявляет устойчивость к болезни, несмотря на наличие в его геноме доминантного аллеля *Tsn1* (Faris et al., 2020).

Для селекции сортов с высокой и стабильной устойчивостью к желтой пятнистости многообещающим подходом является пирамидирование нескольких основных локусов устойчивости, а также некоторых «больших» QTL.

За последние десять лет проведен полногеномный поиск ассоциаций – GWAS (genome-wide association studies) SNP-гаплотипов (SNP – single nucleotide polymorphism) мягкой пшеницы с локусами устойчивости к возбудителю желтой пятнистости (Gurung et al., 2014; Kollers et al., 2014; Singh et al., 2016; Juliana et al., 2018; Dinglasan et al., 2019; Galagedara et al., 2020; Liu et al., 2020; Phuke et al., 2020; Kokhmetova et al., 2021; Muqaddasi et al., 2021).

В результате проведенного GWAS выявлено множество новых QTL устойчивости к возбудителю желтой пятнистости. Большая часть этих QTL характеризуется малым эффектом или существенно зависит от генотипа пшеницы. Для выявленных в результате GWAS генов-кандидатов с большим эффектом необходимо разрабатывать молекулярные маркеры, пригодные для маркер-вспомогательной селекции (MAS) – KASP (Kompetitive allele specific PCR – конкурентная аллель-специфичная ПЦР) или CAPS (Cleaved Amplified Polymorphic Sequences – рестрикционный анализ продуктов амплификации маркеров).

Интересные результаты получены при генотипировании 295 линий пшеницы из коллекции ВИР, тестированных по устойчивости к возбудителю желтой пятнистости как в ювенильной, так и во взрослой фазе развития. Для генотипирования использовали маркеры DArTseq (Diversity Arrays genotype-by-sequencing). В результате поиска ассоциаций маркеров и фенотипов по устойчивости были выявлены 11 QTL, расположенных на различных хромосомах трех геномов мягкой пшеницы – A, B и D. Три QTL определены как на стадии проростков, так и у взрослых растений. Особый интерес представляют QTL, ассоциированные со взрослой устойчивостью (APR – adult-plant resistance), локализованные на хромосомах 1A, 2B и 6D (Dinglasan et al., 2019).

В работе Dinglasan et al. (2019) показано, что образцы из коллекции ВИРа, несущие APR QTL, особенно пирамиду из трех QTL (qNV.YS-1A.2 + qNV.YS-2B.1 + qNV.YS-6D), показывают высокие уровни взрослой устойчивости, но в то же время на стадии проростков эти образцы были чувствительны к некроз-индуцирующему токсину Ptr ToxA и имели доминантный аллель гена восприимчивости *Tsn1*. Полученные данные противоречат известному

утверждению о существовании корреляции между чувствительностью пшеницы к токсину Ptr ToxA и восприимчивостью к желтой пятнистости (Friesen et al., 2008). Таким образом, следует признать, что негативная селекция на устойчивость к желтой пятнистости, т.е. против доминантного аллеля гена *Tsn1*, на ювенильной стадии несет риск потери образцов со взрослой устойчивостью. Данные результаты открывают перспективу создания сортов с защитой от широкого спектра рас возбудителя желтой пятнистости путем объединения генетических факторов APR.

Локусы количественных признаков, которые характеризуются расовой неспецифичностью, также представляют особый интерес для селекции пшеницы на устойчивость к *P. tritici-repentis*.

В отличие от расо-специфичных симптомов, классификация которых была разработана с использованием гексаплоидной пшеницы, на образцах мягкой пшеницы, на твердой пшенице многочисленные изоляты 3 и 5 расы (это носители генов эффекторов *ToxC* и *ToxB*) индуцировали неожиданные реакции растения – некроз вместо хлороза (Lamari, Bernier, 1989; Wei et al., 2021). Также изоляты с геном *ToxA* при инокуляции генотипа твердой пшеницы с геном *Tsn1* не вызывали ожидаемый некроз (Faris et al., 2020; Wei et al., 2021). Все эти факты можно объяснить существованием дополнительных механизмов защиты от возбудителя болезни в тетраплоидной пшенице (Faris et al., 2020).

Показано, что изоляты расы 4, непатогенные для гексаплоидной пшеницы, вызывают интенсивный некроз на некоторых генотипах твердой пшеницы (Guo et al., 2020). Отмечается также, что на твердой пшенице взаимодействие *ToxB* – *Tsc2*, по-видимому, более значимо, чем в гексаплоидной (Virdi et al., 2016; Wei et al., 2021).

Маркер-вспомогательная селекция (MAS) на устойчивость пшеницы к желтой пятнистости

Считают, что негативный отбор против доминантных аллелей генов восприимчивости *Tsn1* и *Tsc2* к *P. tritici-repentis* у пшеницы позволит отобрать линии, высоко устойчивые к патогену (Kariyawasam et al., 2016).

Например, в Австралии, где в популяциях патогена *P. tritici-repentis* преобладают изоляты с эффектом Ptr ToxA, в селекции пшеницы на устойчивость применяют технологию негативного отбора образцов, обладающих доминантным аллелем *Tsn1*. В результате этих действий площадь полей, засеянных сортами пшеницы, чувствительными к PtrToxA, сократилась до 1.4 млн га, что составило 8.3 % от общей площади посевов в 2015–2016 годах по сравнению с 37.5 % в 2009–2010 годах (See et al., 2018). Таким образом, сорта высоко чувствительные к желтой пятнистости были замещены сортами с умеренной устойчивостью. В настоящее время в Австралии все коммерческие сорта пшеницы относятся к умеренно устойчивым или умеренно восприимчивым, или нечувствительным к токсину Ptr ToxA (See et al., 2019; See, Moffat, 2021).

Австралийские селекционеры вместо использования молекулярных маркеров для скрининга растений пшеницы на устойчивость к болезни применяют метод обработки растений чистыми токсинами Ptr ToxA или Ptr ToxB в поле или теплице, что позволяет быстро протестировать симптомы и выявить чувствительные линии (Aboukhaddour et al., 2021).

Кодоминантный KASP маркер SNP BS00072620_51 (Corsi et al., 2020), подходит для диагностики аллелей гена *Tsc2* и, представляет собой полезный инструмент для отбора против чувствительности к токсину Ptr ToxB в программах селекции пшеницы в регионах, где распространены изоляты *Pyrenophora tritici-repentis*, содержащие *ToxB*.

Поскольку существует возможность заноса с инфицированным зерном изолятов гриба *P. tritici-repentis*, несущих *ToxB*, остается актуальным скринировать сорта пшеницы на наличие *Tsc2* аллелей чувствительности к токсину Ptr ToxB.

В нашей работе, посвященной ювенильной устойчивости озимых и яровых сортов мягкой пшеницы к *Pyrenophora tritici-repentis*, мы обнаружили устойчивые на ювенильной стадии образцы среди яровых (4.6%) и озимых образцов (6.6%), имеющих доминантную аллель *Tsn1* (Мироненко и др., 2024б). Данный факт позволяет

нам предположить наличие в этих образцах новых генов устойчивости или QTL, подобных локусам QTL APR.

Выявленное нами отсутствие значимой сопряженности между присутствием/отсутствием диагностического фрагмента доминантных аллелей *Tsn1* и проявлением устойчивости/восприимчивости к популяциям *P. tritici-repentis*, представленным различными расами патогена (Мироненко и др., 2024б), также можно объяснить наличием в образцах пшеницы иных генов устойчивости.

В заключение следует отметить сложность патосистемы "*Triticum aestivum* – *Pyrenophora tritici-repentis*", на что существенное влияние оказывают не только расо-специфичные взаимодействия между грибными NE и генами чувствительности хозяина по инверсному типу ген-на-ген, но и наличие множества локусов количественных признаков (QTL), ассоциируемых с устойчивостью к нескольким расам.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 25-16-00287).

Библиографический список (References)

- Андропова АЕ (2001) Пиренофороз озимой пшеницы на юго-западе России. *Защита и карантин растений* 5:32
- Кремнева ОЮ, Волкова ГВ (2007) Структура популяции *Pyrenophora tritici-repentis* на Северном Кавказе по вирулентности и морфолого-культуральным признакам. *Микология и фитопатология* 41(4):356–361
- Гранин ЕФ, Монастырская ЭМ, Краева ГА, Кочубей КЮ (1989) Пиренофороз озимой пшеницы на Северном Кавказе. *Защита растений* 1:21
- Мироненко НВ, Коваленко НМ (2018) Особенности взаимодействия генов *Tsn1* и *ToxA* в патосистеме *Triticum aestivum* – *Pyrenophora tritici-repentis*. *Вестник защиты растений* 2(96):12–16
- Мироненко НВ, Баранова ОА, Коваленко НМ (2019) Характеристика географически отдаленных популяций *Pyrenophora tritici-repentis* по вирулентности и генам токсинообразования *ToxA* и *ToxB*. *Вестник защиты растений* 1(99):24–29. [https://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-1\(99\)-24-29](https://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-1(99)-24-29)
- Мироненко НВ, Орина АС, Коваленко НМ, Зубко НГ (2024а) Расовый состав и изменчивость гена *ToxA* в географически отдаленных популяциях *Pyrenophora tritici-repentis*. *Микология и фитопатология* 58(3):246–253. <https://doi.org/10.31857/S0026364824030064>
- Мироненко НВ, Коваленко НМ, Баранова ОА, Хакимова АГ, Митрофанова ОП (2024б) Ювенильная устойчивость озимых и яровых сортов мягкой пшеницы к *Pyrenophora tritici-repentis*. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции* 185(2):95–105. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2024-2-95-105>
- Михайлова ЛА, Коваленко НМ, Мироненко НВ, Россеева ЛП (2015) Популяции *Pyrenophora tritici-repentis* на территории России. *Микология и фитопатология* 49(4):257–261
- Abeysekara NS, Friesen TL, Liu Z, McClean PE, Faris JD (2010) Marker development and saturation mapping of the tan spot PtrToxB sensitivity locus *Tsc2* in hexaploid wheat. *Plant Genome* 3(3):179–189. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2010.07.0017>
- Aboukhaddour R, Turkington TK, Strelkov SE (2013) Race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* (tan spot of wheat) in Alberta, Canada. *Can J Plant Pathol* 35(2):256–268. <https://doi.org/10.1080/07060661.2013.782470>
- Aboukhaddour R, Hafez M, Strelkov SE, Fernandez MR (2021). Tan spot disease under the lenses of plant pathologists. In: Oliver R. (ed.) *Achieving durable disease resistance in cereals*. London: Burleigh Dodds Science Publishing. 589–621.
- Aboukhaddour R, Hafez M, McDonald M, Moffat CS (2023) A revised nomenclature for *ToxA* haplotypes across multiple fungal species. *Phytopathology* 113:1180–1184. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-23-0017-SC>
- Ali S, Gurung S, Adhikari TB (2010) Identification and characterization of novel isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* from Arkansas. *Plant Dis* 94: 229–235
- Andrie RM, Pandelova I, Ciuffetti LM (2007) A combination of phenotypic and genotypic characterization strengthens *Pyrenophora tritici-repentis* race identification. *Phytopathology* 97:694–701. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-6-0694>
- Antoni EA, Rybak K, Tucker MP, Hane JK et al (2010) Ubiquity of ToxA and absence of ToxB in Australian populations of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Australas Plant Pathol* 39:63–68. <https://doi.org/10.1071/AP09056>
- Benslimane H, Lamari L, Benbelkacem A, Sayoud R et al (2011) Distribution of races of *Pyrenophora tritici-repentis* in Algeria and identification of a new virulence type. *Phytopathologia Mediterranea* 50(2):203–211. <https://www.jstor.org/stable/26458694>
- Chu CG, Chao S, Friesen TL, Faris JD (2010) Identification of novel tan spot resistance QTLs using an SSR-based linkage map of tetraploid wheat. *Mol Breed* 25:327–338
- Chu CG, Friesen TL, Xu SS, Faris JD (2008) Identification of novel tan spot resistance loci beyond the known host-selective toxin insensitivity genes in wheat. *Theor Appl Genet* 117:873–881. <https://doi.org/10.1007/s00122-008-0826-z>
- Ciuffetti LM, Manning VA, Pandelova I, Betts MF, Martinez JP (2010) Host-selective toxins, Ptr ToxA and Ptr ToxB, as necrotrophic effectors in the *Pyrenophora*

- tritici-repentis*-wheat interaction. *New Phytol* 187:911–919. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03362.x>
- Corsi B, Percival-Alwyn L, Downie RC, Venturini L et al (2020) Genetic analysis of wheat sensitivity to the ToxB fungal effector from *Pyrenophora tritici-repentis*, the causal agent of tan spot. *Theor Appl Genet* 133:935–950. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03517-8>
- Dagvadorj B, Outram MA, Williams SJ, Solomon PS (2022) The necrotrophic effector ToxA from *Parastagonospora nodorum* interacts with wheat NHL proteins to facilitate *Tsn1*-mediated necrosis. *Plant J* 110(2):407–418. <https://doi.org/10.1111/tpj.15677>
- De Wolf ED, Effertz RJ, Ali S, Francel LJ (1998) Vistas of tan spot research. *Can J Plant Pathol* 20:349–370
- Dinglasan EG, Singh D, Shankar M, Afanasenko O et al (2019) Discovering new alleles for yellow spot resistance in the Vavilov wheat collection. *Theor Appl Genet* 132:149–162. <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3204-5>
- Effertz RJ, Meinhardt SW, Anderson JA, Jordahl JG, Francel LJ (2002) Identification of a chlorosis-inducing toxin from *Pyrenophora tritici-repentis* and the chromosomal location of an insensitivity locus in wheat. *Phytopathology* 92:527–533. <https://doi.org/10.1094/PHTO.2002.92.5.527>
- Faris JD, Anderson JA, Francel LJ, Jordahl JG (1996) Chromosomal location of a gene conditioning insensitivity in wheat to a necrosis-inducing culture filtrate from *Pyrenophora tritici-repentis*. *Phytopathology* 86:459–463
- Faris JD, Friesen TL (2005) Identification of quantitative trait loci for race-nonspecific resistance to tan spot in wheat. *Theor Appl Genet* 111:386–392. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-2033-5>
- Faris JD, Liu Z, Xu SS (2013) Genetics of tan spot resistance in wheat. *Theor Appl Genet* 126(9):2197–2217. <https://doi.org/10.1007/s00122-013-2157-y>
- Faris JD, Overlander ME, Kariyawasam GK, Karter A et al (2020) Identification of a major dominant gene for race-nonspecific tan spot resistance in wild emmer wheat. *Theor Appl Genet* 133(3):829–841. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03509-8>
- Faris JD, Zhang Z, Lu H, Lu S et al (2010) A unique wheat disease resistance-like gene governs effector-triggered susceptibility to necrotrophic pathogens. *Proc Natl Acad Sci* 107:13544–13549. <https://doi.org/10.1073/pnas.1004090107>
- Fernandez MR, DePauw RM, Clarke JM, Fox SL (1998) Discoloration of wheat kernels by *Pyrenophora tritici-repentis*. *Can J Plant Pathol* 20:380–383
- Friesen TL, Faris JD (2004) Molecular mapping of resistance to *Pyrenophora tritici-repentis* race 5 and sensitivity to Ptr ToxB in wheat. *Theor Appl Genet* 109:464–471
- Friesen TL, Faris JD, Solomon PS, Oliver RP (2008) Host-specific toxins: effectors of necrotrophic pathogenicity. *Cell Microbiol* 10(7):1421–1428. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2008.01153.x>
- Friesen TL, Faris JD (2010) Characterization of the wheat-*Stagonospora nodorum* disease system: what is the molecular basis of this quantitative necrotrophic disease interaction? *Can J Plant Pathol* 32:20–28. <https://doi.org/10.1080/07060661003620896>
- Friesen TL, Faris JD (2021) Characterization of effector-target interactions in necrotrophic pathosystems reveals trends and variation in host manipulation. *Annu Rev Phytopathol* 59:77–98. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-120320-012807>
- Friesen TL, Stukenbrock EH, Liu Z, Meinhardt S et al (2006) Emergence of a new disease as a result of interspecific virulence gene transfer. *Nat Genet* 38(8):953–956. <https://doi.org/10.1038/ng1839>
- Galagedara N, Liu Y, Fiedler J, Shi G et al (2020) Genome-wide association mapping of tan spot resistance in a worldwide collection of durum wheat. *Theor Appl Genet* 133:2227–2237. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03593-1>
- Guo J, Shi G, Liu Z (2018) Characterizing virulence of the *Pyrenophora tritici-repentis* isolates lacking both *ToxA* and *ToxB* genes. *Pathogens* 7(3):74. <https://doi.org/10.3390/pathogens7030074>
- Guo J, Shi G, Kalil A, Friskop A et al (2020) *Pyrenophora tritici-repentis* race 4 isolates cause disease on tetraploid wheat. *Phytopathology* 110(11):1781–1790. <https://doi.org/10.1094/PHTO-05-20-0179-R>
- Gurung S, Mamidi S, Bonman JM, Xiong M et al (2014) Genome-wide association study reveals novel quantitative trait loci associated with resistance to multiple leaf spot diseases of spring wheat. *PLoS One* 9:e108179. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108179>
- Hirrell MC, Spradley JP, Mitchell JK, Wilson EW (1990) First report of tan spot caused by *Drechslera tritici-repentis* on winter wheat in Arkansas. *Plant Dis* 74(3):252
- Juliana P, Singh RP, Singh PK, Poland JA et al (2018) Genome-wide association mapping for resistance to leaf rust, stripe rust and tan spot in wheat reveals potential candidate genes. *Theor Appl Genet* 131:1405–1422
- Kamel S, Cherif M, Hafez M, Despins T, Aboukhaddour R (2019) *Pyrenophora tritici-repentis* in Tunisia: race structure and effector genes. *Front Plant Sci* 10:1562. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01562>
- Kariyawasam GK, Carter AH, Rasmussen JB, Faris J (2016) Genetic relationships between race-nonspecific and race specific interactions in the wheat-*Pyrenophora tritici-repentis* pathosystem. *Theor Appl Genet* 129(5):897–908. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2670-x86>
- Kokhmetova AM, Ali Sh, Sapakhova Z, Atishova MN (2018) Identification of genotypes carriers of resistance to tan spot Ptr ToxA and Ptr ToxB of *Pyrenophora tritici-repentis* in common wheat collection. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding* 22(8):978–986. <https://doi.org/10.18699/VJ18.440>
- Kokhmetova A, Sehgal D, Ali S, Atishova M et al (2021) Genome-wide association study of tan spot resistance in a hexaploid wheat collection from Kazakhstan. *Front Genet* 11:581214. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.581214>
- Kollers S, Rodemann B, Ling J, Korzun V et al (2014) Genome-wide association mapping of tan spot resistance (*Pyrenophora tritici-repentis*) in European winter wheat. *Mol Breed* 34: 363–371. <https://doi.org/10.1007/s11032-014-0039-x>
- Lamari L, Strelkov SE, Yahyaoui A, Orabi J, Smith R B (2003) The identification of two new races of *Pyrenophora tritici-repentis* from the host center of diversity confirms a one-to-one relationship in tan spot of wheat. *Phytopathology* 93(4):391–396. <https://doi.org/10.1094/PHTO.2003.93.4.391>
- Lamari L, Bernier CC (1989) Virulence of isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* on 11 wheat cultivars and cytology of the differential host reactions. *Can J Plant Pathol* 11(3):284–290
- Leišova-Svobodova L, Hanzalova A, Kucera L (2010) Expansion and variability of the *Ptr ToxA* gene in populations

- of *Pyrenophora tritici-repentis* and *Pyrenophora teres*. *J Plant Pathol* 92(3):729–735
- Lepoint P, Renard ME, Legreve A, Duveiller E, Maraite H (2010) Genetic diversity of the mating type and toxin production genes in *Pyrenophora tritici-repentis*. *Phytopathology* 100(5):474–483. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-100.5-0474>
- Liu Y, Zhang Q, Salsman E, Fiedler JD, Hegstad JB (2020) QTL mapping of resistance to tan spot induced by race 2 of *Pyrenophora tritici-repentis* in tetraploid wheat. *Theor Appl Genet* 133(2):433–442. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03474-2>
- Liu Z, Faris JD, Oliver RP, Tan K-C et al (2009) SnTox3 acts in effector triggered susceptibility to induce disease on wheat carrying the *Snn3* gene. *PLoS Pathol* 5:e1000581. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000581>
- Manning VA, Ciuffetti LM (2005) Localization of Ptr ToxA produced by *Pyrenophora tritici-repentis* reveals protein import into wheat mesophyll cells. *Plant Cell* 17(11):3203–3212. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.035063>
- Martinez JP, Oesch NW, Ciuffetti LM (2004) Characterization of the multiple-copy host-selective toxin gene, *ToxB*, in pathogenic and nonpathogenic isolates of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Mol Plant Microbe Interact* 17:467–474. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.5.467>
- Martinez JP, Ottum SA, Ali S, Francel LJ, Ciuffetti LM (2001) Characterization of the *ToxB* gene from *Pyrenophora tritici-repentis*. *Mol Plant Microbe Interact* 14(5):675–677. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.5.675>
- McDonald M, Ahren D, Simpfendorfer S, Milgate A, Solomon PS (2017) The discovery of the virulence gene *ToxA* in the wheat and barley pathogen *Bipolaris sorokiniana*. *Mol Plant Pathol* <https://doi.org/10.1111/mpp.12535>
- McIntosh RA, Yamazaki Y, Dubcovsky J et al. (2013) Catalogue of Gene Symbols for Wheat. <https://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/download.jsp>
- Mikhailova LA, Ternyuk IG, Mironenko, NV (2010) *Pyrenophora teres*, an agent causing wheat leaf spot. *Microbiology* 79:561–565. <https://doi.org/10.1134/S0026261710040223>
- Muqaddasi QH, Kamal R, Mirdita V, Rodemann B et al (2021) Genome-wide association studies and prediction of tan spot (*Pyrenophora tritici-repentis*) infection in European winter wheat via different marker platforms. *Genes* 12:490. <https://doi.org/10.3390/genes12040490>
- Nuzhnaya T, Veselova S, Burkhanova G, Rummyantsev S et al (2023) Novel sources of resistance to *Stagonospora nodorum* and role of effector-susceptibility gene interactions in wheat of Russian breeding. *Int J Plant Biol* 14:377–396. <https://doi.org/10.3390/ijpb14020031>
- Orolaza NP, Lamari L, Ballance GM (1995) Evidence of a host-specific chlorosis toxin from *Pyrenophora tritici-repentis*, the causal agent of tan spot of wheat. *Phytopathology* 85:1282–1287
- Patel JS, Mamidi S, Bonman JM, Adhikari TB (2013) Identification of QTL in spring wheat associated with resistance to a novel isolate of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Crop Sci* 53(3):842–452. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.01.0036>
- Perelló AE, Couretot L, Curti A, Uranga JP, Consolo VF (2019) First report of spot lesion of wheat caused by *Pyrenophora teres* f. sp. *maculata* observed in Argentina. *Crop Protection* 122:19–22. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.03.023>
- Phuke RM, He X, Juliana P, Bishnoi SK et al (2020) Association mapping of seedling resistance to tan spot (*Pyrenophora tritici-repentis* Race 1) in CIMMYT and South Asian wheat germplasm. *Front Plant Sci* 11:1309. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01309>
- Ramos ERA, Kutcher RH, Dallagnol JL (2024) *Pyrenophora tritici-repentis*: a worldwide threat to wheat. In: Wanyera R, Wamalwa M. (eds.) Wheat research and utilization. IntechOpen. <http://doi.org/10.5772/intechopen.110306>
- Rees R, Platz G, Mayer R (1982) Yield losses in wheat from yellow spot: comparison of estimates derived from single tillers and plots. *Aust J Agric Res* 33(6):899–908
- Rees RG, Platz GJ (1979) The occurrence and control of yellow spot of wheat in north-eastern Australia. *Austral J Exper Agriculture and Animal Husbandry* 19(98):369–372
- Running KLD, Momotaz A, Kariyawasam GK, Zurn J et al (2022) Genomic analysis and delineation of the tan spot susceptibility locus *Tsc1* in wheat. *Front Plant Sci* 13:793925. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.793925>
- Running KLD, Acharya K, Roth TM, Singh G et al. (2025) Development of diagnostic markers for the disease susceptibility gene *Tsn1* in wheat reveals novel resistance alleles and a new locus required for ToxA sensitivity. *Theor Appl Genet* 138(7):164. <https://doi.org/doi:10.1007/s00122-025-04952-6>
- Schilder AMC, Bergstrom GC (1994) Infection of wheat seeds by *Pyrenophora tritici-repentis*. *Can J Bot* 72:510–519
- See PT, Marathamuthu KA, Iagallo EM, Oliver RP, Moffat CS (2018) Evaluating the importance of the tan spot ToxA–*Tsn1* interaction in Australian wheat varieties. *Plant Pathol* 67:1066–1075. <https://doi.org/10.1111/ppa.12835>
- See PT, Iagallo EM, Oliver RP, Moffat CS (2019) Heterologous expression of the *Pyrenophora tritici-repentis* effector proteins ToxA and ToxB, and the prevalence of effector sensitivity in Australian cereal crops. *Front Microbiol* 10:182
- See PT, Moffat CS (2021) Evaluation of a novel molecular marker associated with the tan spot disease response in wheat. *Agriculture* 11(6):513. <https://doi.org/10.3390/agriculture11060513>
- Shi G, Kariyawasam G, Liu S, Leng Y et al (2022) A conserved hypothetical gene is required but not sufficient for Ptr ToxC production in *Pyrenophora tritici-repentis*. *Mol Plant Microbe Interact* 35(4):336–348. <https://doi.org/10.1094/MPMI-12-21-0299-R>
- Singh PK, Crossa J, Duveiller E, Singh RP, Djurle A (2016) Association mapping for resistance to tan spot induced by *Pyrenophora tritici-repentis* race 1 in CIMMYTs historical bread wheat set. *Euphytica* 207(3):515–525. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1528-7>
- Singh PK, Mergoum M, Adhikari TB, Shan T et al (2010) Genetic and molecular analysis of wheat tan spot resistance effective against *Pyrenophora tritici-repentis* races 2 and 5. *Mol Breed* 25(3):369–379. <https://doi.org/10.1007/s11032-009-9336-1>
- Stock WS, Brule-Babel AL, Penner GA (1996) A gene for resistance to a necrosis-inducing isolate of *Pyrenophora tritici-repentis* located on 5BL of *Triticum aestivum* cv. Chinese Spring. *Genome* 39:598–604
- Strelkov S, Lamari L (2003) Host parasite interactions in tan spot [*Pyrenophora tritici-repentis*] of wheat. *Can J Plant Pathol* 25:339–349

- Tadesse W, Hsam SL, Wenzel G, Zeller FJ (2008) Chromosome location of a gene conferring resistance to *Pyrenophora tritici-repentis* in Ethiopian wheat cultivars. *Euphytica* 162:423–430. <https://doi.org/10.1007/s10681-007-9593-1>
- Tadesse W, Reents HJ, Hsam SLK, Zeller FJ (2010) Monosomic analysis of tan spot resistance gene in the winter wheat cultivar Arina. *Plant Breed* 129:477–479. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2009.01729.x>
- Tomás A, Bockus WW (1987) Cultivar-specific toxicity of culture filtrates of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Phytopathology* 77:1337–1340.
- Tran VA, Aboukhaddour R, Strelkov IS, Bouras N et al (2017) The sensitivity of Canadian wheat genotypes to the necrotrophic effectors produced by *Pyrenophora tritici-repentis*. *Can J Plant Pathol* 39:149–162
- Virdi SK, Liu Z, Overlander ME (2016) New insights into the roles of host gene-necrotrophic effector interactions in governing susceptibility of durum wheat to tan spot and *Septoria nodorum* blotch. *G3* 6:4139–4150. <https://doi.org/10.1534/g3.116.036525/-DC1>
- Wei B, Despins T, Fernandez MR, Strelkov SE et al (2021) Race distribution of *Pyrenophora tritici-repentis* in relation to ploidy level and susceptibility of durum and winter bread wheat. *Can J Plant Pathol* 43(4):582–598. <https://doi.org/10.1080/07060661.2020.1870002>
- Wolpert TJ, Dunkle LD, Ciuffetti LM (2002) Host-selective toxins and avirulence determinants: what's in a name? *Ann Rev Phytopath* 40:251–285. [10.1146/annurev.phyto.40.011402.114210](https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.011402.114210)

Translation of Russian References

- Andronova AE (2001) [Pyrenophorosis of winter wheat in the southwest Russia]. *Zashchita i karantin rasteniy* 5:32 (In Russian)
- Granin EF, Monastyrskaya EM, Kraeva GA, Kochubey KYu (1989) [Pyrenophorosis of winter wheat in the North Caucasus]. *Zashchita rasteniy* 12:21 (In Russian)
- Kremneva OYu, Volkova GV (2007) [Population structure of *Pyrenophora tritici-repentis* in the North Caucasus on virulence and morphological traits]. *Mikologiya i fitopatologiya* 41(4):356–361 (In Russian)
- Mironenko NV, Kovalenko NM (2018) [Peculiarities of interaction of *Tsn1* and *ToxA* genes in *Triticum aestivum* – *Pyrenophora tritici-repentis* pathosystem]. *Vestnik zashchity rasteniy* 2(96):12–16 (In Russian)
- Mironenko NV, Kovalenko NM, Baranova OA (2019) [Characteristics of the geographically distant populations of *Pyrenophora tritici-repentis* in terms of virulence and *ToxA* and *ToxB* toxin-forming genes]. *Vestnik*
- zashchity rasteniy* 1(99):24–29 (In Russian). [http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-1\(99\)-24-29](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-1(99)-24-29)
- Mironenko NV, Orina AS, Kovalenko NM, Zubko NG (2024a) [Racial composition and variability of the *ToxA* gene in geographically distant populations of *Pyrenophora tritici-repentis*]. *Mikologiya i fitopatologiya* 58(3):246–253 (In Russian). <https://doi.org/10.31857/S0026364824030064>
- Mironenko NV, Kovalenko NM, Baranova OA, Khakimova AG, Mitrofanova OP (2024b) [Seedling resistance of winter and spring bread wheat cultivars to *Pyrenophora tritici-repentis*]. *Trudy po prikladnoy botanike, genetike i seleksii* 185(1):1–11 (In Russian). <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2024-1-1-11>
- Mikhailova LA, Kovalenko NM, Mironenko NV, Rosseeva LP (2015) [Populations of *Pyrenophora tritici-repentis* on the territory of Russia]. *Mikologiya i fitopatologiya* 49(4):257–261 (In Russian)

Plant Protection News, 2025, 108(3), p. 132–140

OECD+WoS: 1.06+KM (Genetics & Heredity)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2025-108-3-17254>

Mini-review

FEATURES OF THE RELATIONSHIP BETWEEN THE PARASITE AND THE HOST IN THE PATHOSYSTEM “*TRITICUM AESTIVUM* – *PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS*”

N.V. Mironenko

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

e-mail: nina2601mir@mail.ru

Tan spot is a widespread disease of wheat, belongs to the group of dangerous, causes yield losses and worsens grain quality. The causative agent of the disease is the ascomycete fungus *Pyrenophora tritici-repentis*. In the last three decades, genetic mechanisms of relationships in the pathosystem “*Triticum aestivum* – *Pyrenophora tritici-repentis*” have been actively studied. The interaction of the parasite and host plant genes occurs according to the inverse type, in contrast to the classical concept, proposed by Flor. The known data on the genetics of soft wheat resistance to the causative agent of tan spot and examples of interactions of wheat susceptibility genes with the main pathogenicity factors of *P. tritici-repentis* are presented. The complexity of the pathosystem “*Triticum aestivum* – *Pyrenophora tritici-repentis*” is noted, which includes not only race-specific interactions determined by fungal NEs and host susceptibility genes, but also many QTLs associated with resistance to several races.

Keywords: tan spot, wheat, races, phytotoxins, effector genes, resistance genes, QTL, *ToxA*, *ToxB*, *ToxC*, *Tsn1*, *Tsc1*, *Tsc2*

Submitted: 20.08.2025

Accepted: 15.10.2025

© Mironenko N.V., published by All-Russian Institute of Plant Protection (St. Petersburg).

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

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

ЭКЗОМЕТАБОЛИТЫ БАЗИДИОМИЦЕТОВ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ К ТОКСИЧЕСКОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ АЛЮМИНИЯ

Д.В. Попыванов*, А.Е. Агеева, М.И. Мулина

Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н. В. Рудницкого, Киров

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

Изучено влияние экзометаболитов базидиальных грибов на морфометрические параметры проростков мягкой пшеницы сорта Награда в условиях алюминиевого стресса. В ходе экспериментов проведена оценка действия внеклеточных метаболитов, полученных при глубинном культивировании на среде из пивного сусла шести видов ксилотрофных грибов: *Trametes pubescens*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis betulina*, *Plicaturopsis crispa*, *Schizophyllum commune* и *Hypsizygus marmoreus*. В работе был использован фильтрат культуральных жидкостей в разведениях 1:10 и 1:100, что позволило установить, что наиболее выраженное положительное влияние на ростовые параметры фильтрата *T. pubescens* проявлялось при разведении 1:100. При этом наблюдалось увеличение длины корней и высоты побегов по сравнению с положительным контролем, где использовался алюминий. Прочие экзометаболиты не оказывали заметного защитного действия, а в отдельных случаях (при использовании фильтрата *F. fomentarius*), даже усиливали угнетающее действие алюминия на рост растений пшеницы. Таким образом, эффект изученных экзометаболитов в значительной степени зависит от вида базидиальных грибов и концентрации фильтрата. Данные, полученные в настоящей работе, свидетельствуют о токсичности некоторых экзометаболитов базидиомицетов для растений.

Ключевые слова: ксилотрофные грибы, ионная токсичность, алюминиевый стресс, стресс-протекторы растений, погрязное культивирование

Поступила в редакцию: 16.05.2025

Принята к печати: 18.08.2025

Введение

Алюминиевый стресс является одним из серьезных ограничивающих факторов для роста растений на кислых почвах. По оценкам, до 40% пахотных земель в мире имеют кислую реакцию, и токсичность ионов алюминия на таких почвах существенно угрожает продуктивности сельскохозяйственных культур (Huabin et al, 2022; Новоселова, Бакулина, 2020; Шуплецова, Щенникова, 2016; Шуплецова, Широких, 2015). Избыток подвижного Al^{3+} в кислых условиях главным образом поражает корневую систему растений: в частности, наблюдается резкое ингибирование удлинения первичного корня и снижение его жизнеспособности (Huabin et al, 2022). Это сопровождается уменьшением поглощения воды и элементов питания, угнетает рост растений и, как следствие, снижает их урожайность. Разработка методов повышения устойчивости культур к алюминиевому стрессу имеет важное значение для сельского хозяйства. Исследования показывают, что некоторые виды ксилотрофных базидиальных грибов способны улучшать всхожесть, усиливать рост и повышать устойчивость растений к различным стрессовым факторам, включая засуху и ионную токсичность (Киселева и др, 2020; Ермошин и др, 2020; Бызова и др, 2022; Никконен, 2021).

В настоящее время все больше внимания уделяется использованию биологических препаратов на основе метаболитов высших грибов базидиомицетов для защиты растений (Liu P et al, 2022). Ксилотрофные базидиальные

грибы синтезируют широкий спектр экзометаболитов – внеклеточных веществ (включая полисахариды, фенольные соединения и др.), обладающих биологической активностью. Предполагается, что эти природные метаболиты могут стимулировать рост растений и повышать их устойчивость к стрессовым факторам, выступая альтернативой химическим средствам защиты растений (Wang, 2021; Hossain, 2024). В опытах с пшеницей было показано, что экзополисахариды *Flammulina velutipes*, *Ganoderma colossus*, *Ganoderma neojaponicum*, *Grifola umbellata*, *Laetiporus sulphureus*, *Pleurotus ostreatus* ускоряли накопление биомассы и рост проростков, а также усиливали активность антиоксидантных ферментов и снижали окислительное повреждение липидов у растений (Tsivileva et al, 2024).

Установлено, что экстракт из плодового тела *Fomes fomentarius* значительно ослабляет токсичность кадмия для проростков злаков. В опытах с *Hordeum vulgare* добавление экстракта из базидиома *F. fomentarius* (1 мг/мл) снизило угнетение корневой системы под действием Cd^{2+} : длина корня составила 30% от контроля, тогда как при добавлении одного лишь кадмия она достигла только 5%. Корни проростков при совместном действии грибного экстракта и кадмия были в 6 раз длиннее, чем на среде с кадмием. Уменьшение повреждения наблюдалось и для побегов: под действием Cd высота побега снижалась на 44% от контроля, тогда как с экзометаболитом – лишь на 29%,

приближаясь к 71 % от контроля. Таким образом, экстракты из плодового тела *F. fomentarius* частично компенсировали ростовые потери от тяжелого металла. Предполагается, что это связано с антиоксидантными и хелаторными свойствами экстракта (Ermoshin et al, 2020).

Имеются сведения, что гриб *Trametes pubescens* при совместном культивировании с растениями улучшает их рост под воздействием ионной токсичности металлов. Например, в гидропонной системе с *Oryza sativa*, *T. pubescens* защищал корневую систему от Cd-стресса: гриб колонизировал корни и адсорбировал ионы Cd^{2+} , снижая их концентрацию в питательной среде и токсичность для растения (Liu J et al, 2022). В результате через 15 дней содержание кадмия в тканях риса было существенно ниже – концентрация кадмия в корнях снизилась на 53.5 %, а в побегах на 86.4 % по сравнению с контролем без гриба. Растения с грибом имели более здоровые корни, близкие по морфологии к контролю без Cd, тогда как у необработанных кадмием корней наблюдалось отмирание клеток верхушки.

Схожие результаты получены на *Triticum aestivum*, инокулированный мицелием *Trametes hirsuta*. Этот гриб был выделен как эндофит из растений на свинцово-загрязненных почвах и показал высокую толерантность к Pb (Malik et al, 2020). Инокуляция проростков пшеницы мицелием *T. hirsuta* повысила их устойчивость к свинцу (1000–1500 мг/кг Pb): наблюдалось увеличение суммарного роста (биомассы) на 24 % и содержания хлорофилла в листьях на 18 % по сравнению с необработанными растениями. Это подтверждает, что взаимодействие с трутовыми грибами может улучшать рост и физиологическое состояние пшеницы на загрязненных металлами субстратах.

В целом, культуральные жидкости многих ксилотрофных базидиомицетов обладают фитостимулирующими свойствами. В недавнем широком скрининге 20 штаммов грибов (13 видов, включая *Armillaria*, *Flammulina*, *Ganoderma*, *Grifola*, *Lentinula*, *Pleurotus* и др.) обнаружено, что их внеклеточные полисахариды улучшают рост и состояние проростков пшеницы. Обработка ростков растворами экзополисахаридов (15–80 мг/л) приводила к достоверному повышению биомассы, удлинению побегов и корней, увеличению числа придаточных корней.

Методы

Объектами исследования являлись проростки пшеницы сорта «Награда». Зерновки предварительно замачивали на 12 часов в растворе экзометаболитов, выделенных из разных видов базидиомицетов при жидкофазном культивировании (изоляты TPub1, FF2/1, FF2/2, Gyps, N7, N8. Семена проращивали в рулонной культуре (на фильтровальной бумаге). Экзометаболиты грибов получали путем глубинного культивирования каждого вида гриба на жидкой питательной среде (100 мл пивного сусла, разведенного до 4° по Баллингу) в колбах Эрленмайера объемом 250 мл с ватно-марлевыми пробками. Жидкую культуру инкубировали на орбитальном шейкере (150 об/мин) при температуре 25 °С до достижения поздней экспоненциальной фазы роста мицелия (10 дней), после чего культуральную жидкость фильтровали через фильтр белая лента. Фильтрат, содержащий экзометаболиты грибов, использовали

Одновременно снижались показатели окислительного стресса – концентрация малонового диальдегида (МДА) в тканях была ниже, содержание пероксида водорода уменьшалось, а активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы и пероксидазы) возрастала. Наиболее выраженный положительный эффект отмечен при концентрации около 40 мг/л. Эти данные свидетельствуют, что внеклеточные метаболиты ксилотрофных базидиомицетов способны одновременно стимулировать ростовые процессы и повышать антиоксидантную защиту растений (Tsivileva et al, 2024).

Экзометаболиты базидиальных грибов (как в форме культуральной жидкости, так и в форме жидкого мицелия) в большинстве случаев улучшают морфометрические параметры растений – увеличивают длину корней и побегов, массу, содержание хлорофилла. Особенно важно, что они частично нейтрализуют угнетающее действие тяжелых металлов (Cd, Pb) на рост, что позволяет прогнозировать схожий положительный эффект и при ионной токсичности алюминия. Таким образом, имеются основания рассматривать экзометаболиты ксилотрофных базидиомицетов как активные компоненты биопрепаратов, способных индуцировать у растений защитные реакции на стрессовые воздействия (Zhang et al., 2022).

Целью данной работы была оценка влияния экзометаболитов базидиальных грибов на рост и развитие проростков мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*) сорта Награда в условиях ионной токсичности алюминия. В рамках исследования решались следующие задачи: анализ изменения морфометрических показателей проростков (длина корней, высота побегов, масса проростков) под действием экзометаболитов некоторых видов грибов; оценка способности экзометаболитов снижать негативное влияние ионов алюминия на рост пшеницы; сравнение эффективности экзометаболитов разных видов базидиомицетов – *Trametes pubescens* (TPub1), *Fomes fomentarius* (FF2/1), *Fomitopsis betulina* (FF2/2), *Gypsizigus marmoreus* (Gyps), *Plicaturopsis crispa* (N7), *Schizophyllum commune* (N8) – в качестве стимуляторов роста и потенциальных средств защиты растений от алюминиевого стресса на примере пшеницы.

в опытах в двух вариантах – разбавление 1:10 и 1:100 (с дистиллированной водой). Контролем служила среда в аналогичном разведении.

Для создания стрессовых условий в рулонной культуре использовали раствор соли алюминия $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$ в концентрации ионов алюминия (Al^{3+}) 30 мг/л. Контрольными условиями считалась дистиллированная вода. Культивирование растений проводили в течение 10 суток с фотопериодом 16 ч./сут. при температуре 23–25 °С.

По окончании опыта в каждом варианте измеряли длину корня и высоту ростка (мм), определяли сырой вес биомассы проростков без зерновки (г), а также подсчитывали процент прорастания семян (всхожесть, %). Каждый вариант опыта закладывали в трех биологических повторностях (n=3). Полученные данные обработаны методами дисперсионного анализа. Достоверность различий между

средними значениями оценивали с помощью однофакторного ANOVA с последующим тестом Дункана при уровне значимости $p \leq 0.05$. Различия считались статистически значимыми при отсутствии пересечения соответствующих

групп согласно критерию Дункана (обозначаемых разными буквами). Статистическая обработка выполнена в программе SPSSSTATISTICS 23.0.0.0.

Результаты

Алюминий оказал выраженное ингибирующее действие на рост проростков пшеницы. В контроле без Al^{3+} средняя длина корня за период опыта достигала около 150 мм, тогда как в условиях алюминиевого стресса (контроль с добавлением алюминия без экзометаболитов) она составила всего около 40 мм, то есть уменьшилась почти в 4 раза. Длина надземной части (проростка) снизилась менее значительно: с 114 мм (контроль) до 102 мм при действии Al^{3+} , а сырой вес одного проростка уменьшился с 0.38 г до 0.32 г. Доля проросших в присутствии Al^{3+} семян уменьшилась незначительно (с 95 % до 93 %), что свидетельствует о том, что основное воздействие алюминиевого стресса проявляется именно в торможении роста корней и побегов, а не в остановке прорастания семян (табл. 1).

Добавление культуральной жидкости (КЖ) базидиомицетов в среду проращивания привело к существенным различиям в ростовых показателях проростков по сравнению с положительным контролем. В положительном контроле алюминий угнетал рост корней по сравнению с контролем без Al^{3+} . Вариант с добавлением разбавленной (1:100) КЖ показал частичное смягчение воздействия Al^{3+} : средняя длина корня увеличилась в 1.5 раза. Экзометаболиты *Trametes pubescens* в разведении 1:100 также несколько улучшили рост корней (на 25 %), хотя этот эффект был менее выражен. Напротив, некоторые экзометаболиты усиливали угнетение корней по сравнению с положительным контролем – например, КЖ *Fomes fomentarius* при концентрации 1:10 приводил к сокращению длины корня на 38 %, а КЖ *Hypsizygus marmoreus* – на 28 %.

Таблица 1. Морфометрические показатели проростков пшеницы на стрессовом фоне с ионной токсичностью алюминия после обработки экзополисахаридами грибов
Table 1. Morphometric parameters of wheat seedlings under stress with aluminum ion toxicity after treatment with mushroom exopolysaccharides

Вариант Variant	Длина корня, мм Root length, mm	Длина побега, мм Shoot length, mm	Биомасса, г Biomass, g	Всхожесть, % Germination, %
1. Контроль с дист. водой Control (distilled water)	150±6 i	114±9 hi	0.38±0.03 g	95±4 f-h
2. Соль алюминия Aluminium salt	40±3 d-f	102±9 f-h	0.32±0.08 c-g	93±6 f-h
3. Сусло 1:10 Wort 1:10	48±4 ef	97±3 d-h	0.32±0.02 c-g	99±2 h
4. Сусло 1:100 Wort 1:100	66±3 g	105±8 f-h	0.34±0.03 c-g	96±3 gh
5. FF2/1 1:10	25±2 a	58±2 a	0.22±0.02 a-b	96±3 gh
6. FF2/1 1:100	41±7 d-f	89±8 c-f	0.32±0.03 d-g	99±2 h
7. TPub 1:10	40±6 d-f	96±9 d-g	0.33±0.03 e-g	97±4 h
8. TPub 1:100	49±5 f	113±3 g-i	0.34±0.04 fg	97±4 h
9. FF2/2 1:10	32±10 ab	104±9 f-h	0.27±0.04 b-f	73±9 a-c
10. FF2/2 1:100	29±3 ab	99±10 e-h	0.23±0.06 ab	81±2 c-e
11. Gyps 1:10	28±4 ab	95±9 d-f	0.24±0.04 a-c	87±10 e-g
12. Gyps 1:100	23±3 ab	88±10 c-f	0.25±0.07 a-d	98±2 h
13. N8 1:10	36±1 b-d	83±5 b-e	0.26±0.07 b-e	80±10 b-e
14. N8 1:100	27±3 ab	82±14 b-d	0.23±0.01 a-b	72±11 a-c
15. N7 1:10	40±2 c-e	80±8 b-d	0.28±0.02 b-f	86±7 d-f
16. N7 1:100	31±1 a-c	71±11 a-b	0.18±0.04 a	68±3 a

В количественном отношении наибольший положительный эффект на рост корней среди испытанных вариантов оказало добавление пивного суслу в концентрации 1:100, длина корня в этом случае была в 1.6 раза больше, чем при положительном контроле (66 мм против 40 мм). По результатам статистического анализа это увеличение оказалось достоверным ($p \leq 0.05$): согласно тесту Дункана вариант с суслим 1:100 образовал отдельную группу (g) по длине корня, отличную от контроля с Al^{3+} (группа d–f). Экзометаболиты *Trametes pubescens* в разведении 1:100 также способствовали некоторому удлинению корней (до 49 мм, что на 22 % больше, чем при положительном контроле). Однако данное различие не было статистически значимым (группа f по тесту Дункана, совпадающая с группой алюминиевого контроля d–f). При меньшем разведении *T. pubescens* (1:10) эффект практически отсутствовал – длина корней (40 мм) осталась на уровне положительного контроля. Добавка экзометаболитов *Fomes fomentarius* продемонстрировала нейтральный или отрицательный результат. Так, при разбавлении 1:100 длина корней (41 мм) не отличалась от варианта с положительным контролем, тогда как при более высокой концентрации (1:10) наблюдалось сильное угнетение корневой системы – средняя длина корня снизилась до 25 мм. Данная величина была минимальной среди всех изученных вариантов, и статистически она достоверно отличалась от контроля с Al^{3+} (группа “a” против d–f, $p \leq 0.05$), то есть экзометаболиты *Fomes fomentarius* усугубили ионную токсичность алюминия для корней.

Экзометаболиты других исследованных грибов (*Fomitopsis betulina*, *Plicaturopsis crispa*, *Schizophyllum commune* и *Hypsizygus marmoreus*) не проявили значимой протекторной способности от действия Al^{3+} . КЖ данных видов базидиомицетов не приводило к значимому увеличению длины корней или побегов по сравнению с положительным контролем. В некоторых случаях отмечался даже отрицательный эффект, сходный с воздействием *Fomes fomentarius*. При обработке зерновок пшеницы КЖ *Fomitopsis betulina* и *Plicaturopsis crispa* в разведении 1:10 длина корней была на уровне 36–39 мм (что сопоставимо со положительным контролем), тогда как при разведении 1:100 показатели ухудшались (на 27–31 мм). Аналогично для КЖ *Schizophyllum commune* наблюдалось отсутствие положительного эффекта: длина корней оставалась около 30–40 мм (в пределах ошибки контроля). Таким образом, ни одна из данных КЖ не показала достоверного улучшения корнеобразования по сравнению с положительным контролем, по тесту Дункана они не образовывали отдельных групп.

Полученные результаты демонстрируют, что действие экзометаболитов базидиальных грибов на рост проростков пшеницы в условиях алюминиевого стресса значительно варьирует в зависимости от вида гриба и концентрации фильтрата. Присутствие фитотоксичных ионов Al^{3+} в среде резко угнетает развитие корневой системы пшеницы (Huabin et al, 2022). Первичная реакция на Al^{3+} – подавление роста корней и повреждение меристемы корней

Длина побегов проростков значительно меньше изменялась при воздействии алюминия, влияние КЖ на этот показатель также было менее выраженным. В отрицательном контроле (дистиллированная вода) длина побега составляла 114 мм, в положительном (с алюминием) – 102 мм. Обработка *T. pubescens* 1:100 дала некоторое увеличение высоты побега (в среднем до 113 мм, достигая уровня отрицательного контроля). Однако из-за высокой вариабельности это различие не значимо статистически ($p > 0.05$). КЖ других грибов не влияли или незначительно уменьшали высоту побегов: например, при обработке КЖ *F. fomentarius* 1:10 побеги были самыми короткими (58 мм), что достоверно меньше контроля с Al^{3+} (по тесту Дункана вариант *F. fomentarius* 1:10 образовал отдельную группу “a” и по длине побега). Варианты с КЖ *H. marmoreus*, *F. betulina*, *P. crispa*, *S. commune* обеспечивали длину побега в диапазоне 70–95 мм, что статистически не отличалось от положительного контроля (102 мм) из-за большой дисперсии данных.

Вес сухой биомассы проростков в условиях ионной токсичности алюминия несколько снижался (средний вес одного проростка 0.32 г против 0.38 г в контроле без Al^{3+}). Существенного увеличения этого показателя при обработке КЖ не отмечено – ни один из вариантов не восстановил биомассу до уровня без стресса. Тем не менее, в вариантах с КЖ *T. pubescens* 1:100 и с добавлением суслу 1:100 биомасса была незначительно выше (0.34 г) по сравнению с положительным контролем (0.32 г), несмотря на это, различия по критерию Дункана не обнаружено. Напротив, некоторые КЖ приводили к достоверному уменьшению биомассы: так, под действием *F. fomentarius* 1:10 биомасса снизилась до 0.22 г (0.32 г положительный контроль; $p \leq 0.05$), что согласуется с данными по длине корней. Минимальное значение сухой массы (0.18 г) наблюдалось у проростков, обработанных КЖ *S. commune* при разведении 1:100, что указывает на негативный эффект метаболитов гриба.

Всхожесть семян в целом незначительно зависела от различных КЖ, оставаясь достаточно высоким в большинстве вариантов. В отрицательном контроле без алюминия всхожесть составляла 95 %, в положительном – около 93 %. Некоторые КЖ, наоборот, угнетали прорастание: так, КЖ *F. betulina* 1:10 снижала всхожесть до 73 %, минимальное значение – 68 % – отмечено для КЖ *S. commune* 1:100. Эти варианты достоверно отличались от контроля ($p \leq 0.05$) и образовали отдельные группы с самыми низкими значениями всхожести. Таким образом, отдельные экзометаболиты при определенных концентрациях могут тормозить не только рост, но и процесс прорастания семян.

Обсуждение

– приводит к сокращению поглощения питательных веществ и воды, что ограничивает рост надземной части и накопление биомассы растений (Huabin et al, 2022).

Экзометаболиты грибов показали разноплановое действие. Наиболее перспективным оказался фильтрат *T. pubescens* в разбавлении 1:100 – при его добавлении наблюдалось наибольшее восстановление роста корней и побегов пшеницы под действием Al^{3+} . Хотя статистически

прибавка длины корня КЖ 1:100 не достигла достоверности, тенденция к улучшению прослеживалась (рост корня +22%, побега +10% против стрессового контроля). Это позволяет считать *T. pubescens* источником соединений, потенциально смягчающих алюминиевый стресс у растений. Известно, что некоторые базидиомицеты вырабатывают биополимеры с фитостимулирующими свойствами (Hijri M, 2023). Возможно, *T. pubescens* секретирует во внешнюю среду полисахариды, способные выступать элиситорами защитных реакций у растений или непосредственно нейтрализовать стрессовые факторы. В работе Tsivileva et al. (2024) показано, что внеклеточные полисахариды многих ксилотрофных грибов улучшают рост пшеницы и активируют ее антиоксидантную систему (повышают активность супероксиддисмутазы, пероксидазы и уменьшают накопление перекиси и малонового диальдегида). Вероятно, экзометаболиты *T. pubescens* могут действовать сходным образом, повышая антиоксидантную защиту в корнях и тем самым ослабляя повреждающее действие активных форм кислорода, индуцированных Al^{3+} (Tsivileva et al, 2024).

В противоположность *T. pubescens*, экзометаболиты ряда других грибов не только не проявили защитного эффекта, но и усилили стрессовое угнетение. Так, КЖ *F. fomentarius* (1:10) воздействовал на проростки более отрицательно, чем положительный контроль. Вероятная причина – наличие в культуральной жидкости *F. fomentarius* фитотоксичных вторичных метаболитов. Известно, что *F. fomentarius* содержит различные органические кислоты, терпеновые соединения и фенолы, обладающие биологической активностью. (Huabin et al, 2022). В эксперименте было установлено, что метаболиты *F. fomentarius* непригодны в качестве протектора от Al -стресса.

Интересный результат получен относительно всхожести семян. В большинстве вариантов обработка КЖ не препятствовала прорастанию – семена достаточно успешно проросли ($\geq 90\%$ всхожести). Это говорит о том, что зародыши семян способны переносить указанные воздействия по крайней мере до выхода ростка. Однако, в отдельных вариантах (особенно *F. betulina* 1:10, *S. commune* 1:100) всхожесть значительно снизилась (до 68–73%). Вероятно, некоторые экзометаболиты КЖ способны проникать в семена или подавлять их на ранних стадиях прорастания. Например, значительное количество растворимых фенольных соединений в растворе могло препятствовать поглощению воды или повредить зародышевые ткани. (Gholami, 2023).

Таким образом данный эксперимент выявил, что экзометаболиты *T. pubescens* обладают свойствами биостимулятора роста мягкой пшеницы при токсическом воздействии Al^{3+} . В то же время экзометаболиты остальных исследованных грибов, в особенности *Fomes fomentarius*, оказывают негативное действие на проростки.

Действие культуральных жидкостей грибов многофакторное. Основные выявленные механизмы, с помощью которых экзометаболиты улучшают рост растений и их стрессоустойчивость, включают следующие:

1. Хелатообразование и иммобилизация ионов металлов. Грибы способны вырабатывать органические кислоты (например, оксалоую, цитратную) и другие метаболиты, связывающие токсичные металл-ионы во внеклеточном пространстве. В случае *Trametes pubescens* показано, что гриб адсорбирует и аккумулирует некоторые тяжелые металлы в своей биомассе, значительно снижая остаточную концентрацию ионов в окружающей среде (Liu J, 2022). За счет этого уменьшается воздействие токсиканта на корни растений. Многие грибы реализуют подобные механизмы детоксикации: они либо исключают металл из биосистемы (осаждение в нерастворимые соли, депонирование в клеточных стенках), либо накапливают его внутри собственных структур (Elhamouly et al, 2022). В результате, при добавлении культуральной жидкости, содержащей такие хелаторы, токсичные ионы Al^{3+} могут образовывать комплексы, менее доступные для поглощения корнями. Это эксклюзионный механизм повышения устойчивости растений к алюминию, аналогичный естественному выделению корнями органических кислот для связывания Al^{3+} во внешней среде.

2. Антиоксидантное действие и снижение оксидативного стресса. Тяжелые металлы и Al^{3+} в том числе вызывают в растениях оксидативный стресс – накопление активных форм кислорода (H_2O_2 , радикалов), что повреждает клетки. Экзометаболиты грибов богаты антиоксидантами, способными нейтрализовать эти свободные радикалы. Так, экстракт *Fomes fomentarius* содержит фенольные соединения (по оценке 3.5 мкг/мл в пересчете на фенолы) и показал высокую антирадикальную активность: в тесте АВТС* он ингибировал 51% радикалов, что сопоставимо с действием стандарта–рутина (Ermoshin et al, 2020). Наличие таких полифенолов может защищать клетки растений, поглощая активные формы кислорода (АФК), образующиеся под действием Al^{3+} . Кроме прямого химического нейтрализующего эффекта, экзометаболиты способны уменьшить образование АФК в растениях. В вышеупомянутом исследовании с экзополимерами грибов наблюдалось снижение уровня перекиси водорода и малондиальдегида в тканях обработанных проростков пшеницы (Lisaj et al., 2024), что указывает на уменьшение степени окислительного повреждения. Вероятно, грибные компоненты нейтрализуют супероксид и перекись, либо препятствуют их избыточной генерации (например, защищая мембраны от повреждения Al^{3+} и тем самым снижая действие АФК).

3. Индукция антиоксидантных ферментов и стресс-защитных систем в растениях. Помимо прямого антиоксидантного эффекта, экзометаболиты могут выступать сигналами, приводя в готовность собственную защитную систему растения. Отмечено, что обработка внеклеточными полисахаридами грибов стимулирует активность ферментов антиоксидантной защиты у пшеницы – например, супероксиддисмутазы (СОД) и пероксидазы (Sun et al, 2024). СОД и пероксидаза составляют ключевой ферментный блок детоксикации: СОД переводит супероксидные радикалы в H_2O_2 , а пероксидазы разлагают H_2O_2 до воды (Pomortsev et al, 2022). Повышение активности этих ферментов под действием грибных метаболитов было

значительным (в отдельных вариантах +150% к СОД, +40% к пероксидазе против контроля) и сопровождалось снижением накопления H_2O_2 и МДА в растениях. Интересно, что небольшое остаточное повышение уровня H_2O_2 (в пределах 4–7% к контролю) при обработке некоторыми грибными экзометаболитами, по-видимому, играет сигнальную роль – перекись водорода в малых количествах служит вторичным мессенджером, запускающим экспрессию генов антиоксидантной защиты и других стрессоустойчивых компонентов (Bekkae et al, 2023). Таким образом, грибные экзометаболиты могут «тренировать» растение, включая системную приобретенную устойчивость: это похоже на эффект известных элиситоров, активирующих пути защитных фитогормонов (салициловая кислота, жасмонат и пр.) и усиливающих устойчивость к стрессорам. Некоторые полисахариды грибов (например, β -глюкан шизофиллан у *Schizophyllum commune*) известны как иммуномодуляторы у растений и могли бы стимулировать укрепление клеточных стенок и антиоксидантный статус аналогично бактериальным экзополисахаридам (Naseem, Bano, 2014).

4. Фитогормоноподобное действие и стимуляция роста. Многие грибы продуцируют соединения, влияющие на рост растений как гормоны. В культуральной жидкости могут присутствовать аналоги ауксинов, цитокининов, гиббереллинов или их предшественники. В частности, показано, что *Hypsizygus marmoreus* накапливает в мицелиальной массе целый ряд индольных соединений:

L-триптофан, 5-гидрокси-триптофан, триметилтриптами, мелатонин и др. (Kala et al, 2022). Триптофан и производные могут служить основой для синтеза индолуксусной кислоты – ключевого фитогормона-ауксина, стимулирующего рост корней. Мелатонин является мощным антиоксидантом и сигналом, повышающим устойчивость растений к неблагоприятным факторам (известно, что экзогенный мелатонин улучшает рост корней и снижает повреждения от солевого и тяжелометаллового стресса у растений за счет активации антиоксидантных генов). Таким образом, экстракты таких грибов, как *H. marmoreus*, могут обладать гормоноподобным эффектом – например, вызывать увеличение длины корней и числа боковых корешков (аналогично действию ауксина) или задерживать старение листьев (как цитокинины). В экспериментах действительно наблюдались изменения архитектуры корневой системы: под действием грибных метаболитов у пшеницы удлинялись главные корни и возрастало число придаточных (Tsivileva et al, 2024), что потенциально позволяет растению эффективнее добывать воду и избегать поверхностных токсичных слоев почвы (Traxler, 2022). Это косвенно подтверждает наличие у грибов специальных метаболитов, регулирующих транспорт металлов. Если такие метаболиты поступают в растение, они теоретически могут модулировать проницаемость мембран для Al^{3+} или стимулировать отток/изоляция алюминия в вакуолях (внутренний толерантный механизм).

Заключение

Эксперимент показал, что экзометаболиты базидиальных грибов существенно влияют на рост проростков пшеницы сорта Награда в условиях алюминиевого стресса. Токсическое действие ионов Al^{3+} выразилось в резком угнетении роста корней (сокращение длины на 73%) и снижении биомассы проростков. Обработка культуральной жидкостью базидиомицетов привела к частичному ослаблению негативного эффекта Al^{3+} , вероятно за счет компонентов питательной среды, взаимодействующих с алюминием. Среди шести протестированных видов грибов положительный эффект отмечен у КЖ *Trametes pubescens*: его внеклеточные метаболиты при разведении 1:100 несколько стимулировали рост корней и побегов пшеницы под воздействием Al^{3+} . Экзометаболиты других видов (*Fomes fomentarius*, *Fomitopsis betulina*, *Plicaturopsis crispa*, *Schizophyllum commune*, *Hypsizygus marmoreus*) не показали значимого защитного действия. Более того, концентрированные фильтраты *F. fomentarius* и некоторых других грибов даже усиливали ингибирование роста (длина корней снижалась дополнительно на 25–30%

по сравнению со стрессовым контролем). Статистически достоверные различия между вариантами подтверждены тестом Дункана ($p \leq 0.05$): например, минимальная длина корней отмечена при обработке *F. fomentarius* 1:10 (группа “a”), а максимальная – при добавлении суслу 1:100 (группа “g”), тогда как *Trametes* 1:100 занял промежуточное положение (группа “f”, близкую к контролю с Al).

В заключение, экзометаболиты базидиальных грибов представляют интерес как потенциальные биостимуляторы роста и защитные средства для растений, однако их эффективность сильно зависит от вида гриба и концентрации. Наиболее перспективным объектом для дальнейших исследований является *T. pubescens*, экзометаболиты которого способны снижать токсический эффект алюминия у пшеницы. Полученные результаты закладывают основу для разработки новых биопрепаратов на основе метаболитов грибов, применение которых может повысить устойчивость сельскохозяйственных культур к токсичному воздействию алюминия и другим абиотическим стрессорам.

Библиографический список (References)

Бызова МА, Ермошин АА, Киселева ИС (2022) Экстракты трутовых грибов уменьшают цитотоксичность ионов кадмия в *Hordeum*-тесте. *Биомика* 14(4):310–314. <https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmc.2022-30>
Ермошин АА, Синенко ОС, Никконен ИВ, Новиков ВВ

и др (2020) Экстракты ксилотрофных грибов снижают токсическое действие ионов кадмия у ячменя. *Современные подходы и методы в защите растений*. 76–77.
Киселева ИС, Ермошин АА, Нсенгиюмба ДС, Балабанов ПА и др (2020) Экстракты трутовых грибов как

- регуляторы роста растений. Актуальные вопросы органической химии и биотехнологии. Екатеринбург: УрФУ. 491–494.
- Никконен ИВ, Новиков ВВ, Ермошин АА (2021) Экстракты ксилотрофных базидиомицетов как биопротекторные препараты в растениеводстве. В сб.: *Биосистемы: организация, поведение, управление*. Нижний Новгород: НиНгу им. Н.И. Лобачевского, 159.
- Новоселова НВ, Бакулина АВ (2020) Молекулярные маркеры в селекции сортов ячменя, устойчивых к ионной токсичности. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока* 21(1):07–17. <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2020.21.1.07-17>
- Шуплецова ОН, Широких ИГ (2015) Повышение устойчивости ячменя к токсичности металлов и осмотическому стрессу путем клеточной селекции. *Зерновое хозяйство России* (1):57–62.
- Шуплецова ОН, Щенникова ИН (2016) Результаты использования клеточных технологий в создании новых сортов ячменя, устойчивых к токсичности алюминия и засухе. *Вавиловский журнал генетики и селекции* 20(5):623–628. <https://doi.org/10.18699/VJ16.183>
- Bekkaye M, Baha N, Behairi S, MariaPerez Clemente R et al (2023) Impact of bio-inoculation with halotolerant rhizobacteria on growth, physiological, and hormonal responses of durum wheat under salt stress. *J Plant Growth Regul* 42(10):6549–6564. <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10901-0>
- Chasov AV, Minibayeva FV (2009). Effect of exogenous phenols on superoxide production by extracellular peroxidase from wheat seedling roots. *Biochemistry (Moscow)* 74:766–774. <https://doi.org/10.1134/S0006297909070098>
- Elhamouly NA, Hewedy OA, Zaitoon A, Miraples A et al (2022). The hidden power of secondary metabolites in plant-fungi interactions and sustainable phytoremediation. *Front Plant Sci* 13:1044896. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1044896>
- Ermoshin A, Kiseleva I, Sinenko O, Nikkonen I et al (2020) *Fomes fomentarius* Extract Decrease Negative Impact of Cadmium Ions in Barley Seedlings. *Biol Life Sci Forum* 4(1):94. <https://doi.org/10.3390/IECPS2020-08746>
- Gholami H, Abdolshahi R, Mohayjeji M, Esmailizadeh-Moghadam M (2023) Investigation of coleoptile and mesocotyl as the most important factors for the establishment of bread wheat seed under rain-fed conditions. *Iran J Seed Res* 9(2):63–76. <https://doi.org/10.61186/yujs.9.2.63>
- Hijri M (2023) Microbial-based plant biostimulants. *Microorganisms* 11(3):686. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030686>
- Hossain MM, Sultana F, Khan S, Nayeema J et al (2024) Carrageenans as biostimulants and bio-elicitors: plant growth and defense responses. *Stress Biol* 4(1):3. <https://doi.org/10.1007/s44154-023-00143-9>
- Huabin L, Rong Z, Kai S, Weixiang L et al (2022) Aluminum stress signaling, response, and adaptive mechanisms in plants. *Plant Signal Behav* 17(1):2057060. <https://doi.org/10.1080/15592324.2022.2057060>
- Kala K, Pajak W, Sulowska-Ziaja K, Krakowska A et al (2022) *Hypsizygus marmoreus* as a source of indole compounds and other bioactive substances with health-promoting activities. *Molecules* 27(24):8917. <https://doi.org/10.3390/molecules27248917>
- Licaj I, Germinario C, Di Meo MC, Varricchio E et al (2024) The physiology and anatomy study in leaves of Saragolla and Svevo wheat cultivars under polyethylene glycol-simulated drought stress. *Funct Plant Biol* 51(2): FP23151. <https://doi.org/10.1071/FP23151>
- Liu J, Fu P, Wang L, Lin X et al (2022) A fungus (*Trametes pubescens*) resists cadmium toxicity by rewiring nitrogen metabolism and enhancing energy metabolism. *Front Microbiol* 13:040579. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1040579>
- Liu P, Wu X, Gong B, Lü G et al (2022) Review of the mechanisms by which transcription factors and exogenous substances regulate ROS metabolism under abiotic stress. *Antioxidants* 11(11):2106. <https://doi.org/10.3390/nano11102670>
- Malik A, Butt TA, Naqvi STA, Yousaf S, Qureshi MK et al (2020) Lead tolerant endophyte *Trametes hirsuta* improved the growth and lead accumulation in the vegetative parts of *Triticum aestivum* L. *Heliyon* 6(7):e04188. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04188>
- Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Sci* 9(10):490–498. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.08.009>
- Naseem H, Bano A (2014) Role of plant growth-promoting rhizobacteria and their exopolysaccharide in drought tolerance of maize. *J Plant Interact* 9(1):689–701
- Pomortsev AV, Dorofeev NV, Adamovich SN, Oborina EN (2022) Effect of protatranes on the physiological parameters of spring wheat under chloride salinity conditions. *Izv Vuzov Prikl Biotechnol* 12(3):485–490. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-3-485-490>
- Sun Y, Xie X, Jiang CJ (2024) Antioxidant agriculture for stress-resilient crop production: Field practice. *Antioxidants* 13(2):164. <https://doi.org/10.3390/antiox13020164>
- Traxler L (2022). Potential of *Schizophyllum commune* for mycoremediation at the Chernobyl exclusion zone. Diss. Dissertation, Jena, Friedrich-Schiller-Universität Jena.
- Tsivileva O, Shaternikov A, Evseeva N (2024) Basidiomycetes polysaccharides regulate growth and antioxidant defense system in wheat. *Int J MolSci* 25(13):6877. <https://doi.org/10.3390/ijms25136877>
- Wang A, Li J, Al-Huqail AA, Al-Harbi MS et al (2021) Mechanisms of chitosan nanoparticles in the regulation of cold stress resistance in banana plants. *Nanomaterials* 11(10):2670. <https://doi.org/10.3390/nano11102670>
- Zhang, T.; Wang, Y.; Ma, X.; Ouyang, Z.; Deng, L.; Shen, S.; Dong, X.; Du, N.; Dong, H.; Guo, Z. (2022) Melatonin Alleviates Copper Toxicity via Improving ROS Metabolism and Antioxidant Defense Response in Tomato Seedlings. *Antioxidants* 11:758. <https://doi.org/10.3390/antiox11040758>

Translation of Russian References

- Byzova MA, Ermoshin AA, Kiseleva IS (2022) [Extracts of polypore fungi reduce cadmium ion cytotoxicity in *Hordeumtest*]. *Biomics* 14(4):310–314. <https://doi.org/10.31301/2221-6197.bmcs.2022-30> (in Russian)
- Ermoshin AA, Sinenko OS, Nikkonen IV, Novikov VV et al (2020) [Extracts of xylophilic fungi reduce the toxic effect of cadmium ions in barley]. *Modern Approaches and Methods in Plant Protection*, 76–77 (In Russian)
- Kiseleva IS, Ermoshin AA, Nsengiyumva DS, Balabanov PA et al (2020) [Extracts of polypore fungi as plant growth regulators]. *Topical Issues of Organic Chemistry and Biotechnology*. Ekaterinburg, Ural Federal University, 491–494 (in Russian)
- Nikkonen IV, Novikov VV, Ermoshin AA (2021) [Extracts of xylophilic basidiomycetes as bioprotective preparations in crop production]. *Biosystems: Organization, Behavior, Control*. Nizhny Novgorod, Lobachevsky State University, 159 (in Russian)
- Novoselova NV, Bakulina AV (2020) [Molecular markers in barley breeding for ion toxicity resistance]. *Agricultural Science of the Euro-North-East* 21(1):7–17. <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2020.21.1.07-17> (in Russian)
- Shupletsova ON, Shirokikh IG (2015) [Improving barley resistance to metal toxicity and osmotic stress through cell selection]. *Grain Farming of Russia* (1):57–62. (in Russian)
- Shupletsova ON, Shchennikova IN (2016) [Results of using cell technologies in creating new barley varieties resistant to aluminum toxicity and drought]. *Vavilov J Genetics and Breeding* 20(5):623–628. <https://doi.org/10.18699/VJ16.183> (in Russian)

Plant Protection News, 2025, 108(3), p. 141–148

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy), 1.06+RQ (Mycology)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2025-108-3-17057>

Full-text article

EXOMETABOLITES OF BASIDIOMYCETES AS A MEANS TO INCREASE WHEAT RESISTANCE TO TOXIC ACTION OF ALUMINUM

D.V. Popyvanov*, A.E. Ageeva, M.I. Mulina

Federal Agricultural Research Center of the North-East named N. V. Rudnitsky, Kirov, Russia

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

The effect of exometabolites of basidial fungi on the morphometric parameters of soft wheat seedlings (*Triticum aestivum*) of the Premium variety under aluminum stress was studied. Extracellular metabolites were evaluated, obtained by deep cultivation on beer wort medium of six species of xylophilic fungi: *Trametes pubescens*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis betulina*, *Plicaturopsis crispa*, *Schizophyllum commune*, and *Hypsizygus marmoreus*. The filtrate of cultural fluids (CF) in dilutions of 1:10 and 1:100 was used in the work. The most pronounced positive effect on the growth parameters of *T. pubescens* filtrate was found at a dilution of 1:100. A partial increase in root length and shoot height was observed compared to the positive control with aluminum. Other exometabolites didn't show a noticeable protective effect, and in some cases (*F. fomentarius*), wheat growth inhibition was increased. The effect of exometabolites strongly depended on the fungal species and concentration of the filtrate. The data obtained indicate the toxicity of some exometabolites of basidiomycetes to plants.

Keywords: xylophilic fungi, ion toxicity, aluminum stress, plant stress protectants, submerged cultivation

Submitted: 16.05.2025

Accepted: 18.08.2025

НОВЫЙ ПОДХОД К ПРИМЕНЕНИЮ КОКЦИДОФАГА *CRYPTOLAEMUS MONTROUZIERI* (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) В ОРАНЖЕРЕЯХ БОТАНИЧЕСКИХ САДОВ

Ю.Б. Поликарпова^{1*}, Е.А. Варфоломеева²

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

²Ботанический институт им В.Л. Комарова, Санкт-Петербург

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

Борьба с мучнистыми червецами в оранжереях ботанических садов остается актуальной проблемой. Применение кокцидофага *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera: Coccinellidae) методом летней сезонной колонизации часто показывает низкую эффективность. Целью работы было изучить возможность использования имаго холодоустойчивых культур криптолемуса в зимне-весенний период для подавления весенней вспышки численности мучнистого червеца. Лабораторные культуры закладывались от природных особей, собранных на Черноморском побережье Кавказа. Тестирование проводилось в 2-х тропических оранжереях Ботанического сада Петра Великого (Россия, Санкт-Петербург). Численность мучнистого червеца *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae) и личинок хищника учитывали на семи видах модельных растений: на *Coffea arabica*, *Mangifera indica*, *Tectona grandis* и *Theobroma cacao* в оранжерее «Плодовые растения тропиков»; на *Combretum fruticosum*, *Ptychosperma elegans* и *Cedrela glaziovii* в «Большой пальмовой оранжерее». Установлено, что особи холодоустойчивых культур криптолемуса способны размножаться на фоне температуры 17–18 °С. Личинки хищника, отмечаемые в оранжереях в январе-марте, подавляли рост численности мучнистого червеца весной. В свою очередь это создавало благоприятные условия для контроля численности вредителя летом. Многолетняя программа применения холодоустойчивых культур криптолемуса позволила сдерживать численность мучнистого червеца на уровне, не приносящем существенный вред растениям, в условиях защищенного грунта.

Ключевые слова: холодоустойчивые культуры, криптолемус, мучнистые червецы, Pseudococcidae, тропические растения, многолетние программы борьбы

Поступила в редакцию: 06.08.2025

Принята к печати: 14.10.2025

Введение

Оранжереи ботанических садов имеют ряд специфических характеристик, обуславливающих особенности защиты коллекционных растений от вредителей, в том числе свои подходы в применении энтомофагов. В комплексе фитофагов в оранжереях преобладают сосущие вредители. При этом часто значительную долю среди них занимают кокциды: щитовки, ложнощитовки и мучнистые червецы (Варфоломеева, Другова, 2009; Рак и др., 2014; Valiyeva et al., 2018).

Защитные мероприятия, проводимые в оранжереях, преследуют две цели: обеспечение нормальной вегетации растений и сохранение их декоративности. Снижение декоративности может быть следствием как прямого (изменение окраски листовых пластинок, опадание листьев, деформация побегов), так и опосредованного воздействия фитофагов (Рак, Литвинова, 2014; Трикоз и др., 2021). На медвяной росе, выделяемой сосущими вредителями, развиваются сажистые грибы. Помимо ухудшения внешнего вида растений они препятствуют нормальному протеканию процесса фотосинтеза. Степень заселения растений сажистыми грибами коррелирует с численностью мучнистых червецов и температурой воздуха (Shukla et al., 2017). Поэтому высокая численность вредителей в летний период несет угрозу для декоративности растений. Самое сильное поражение листьев сажистыми грибами может отмечаться в оранжереях летом или в начале осени (Щуковская, Каштанова, 2016; Сулейманова, 2013).

Широкое флористическое разнообразие затрудняет оценку эффективности защитных мероприятий. И в большинстве случаев невозможно выделить контрольный вариант. В таких условиях целесообразно проводить сравнение многолетней динамики численности вредителей в отдельной оранжерее. С другой стороны, длительное культивирование растений позволяет добиваться постепенного снижения численности вредителей в течение нескольких лет (Кудряшова, 2015; Щуковская, Каштанова, 2016). Аналогичные закономерности были выявлены при использовании энтомофагов в теплицах на розах (Моор, 2024).

Климатические условия, поддерживаемые в оранжереях, имитируют климат естественных мест обитания экспонируемых растений, в том числе отображая сезонные изменения (Rutherford, Marvin, 2024). Температурный режим поддерживается в зависимости от потребностей растений и существенно меняется в течение года. Основное деление происходит на тропические и субтропические оранжереи. В свою очередь среди них могут выделяться более холодные и теплые. Временные рамки сезонов, принятые в оранжереях, не идентичны календарным срокам. Так, зимним сезоном считается период с ноября по февраль и частично март, а конец мая относят уже к летнему сезону. Общим для всех оранжерей является поддержание низких температур зимой. В это время в большинстве оранжерей значения дневных температур не превышают

18 °С, и лишь в самых теплых достигают 20 °С. Постепенное повышение температуры начинается в марте-апреле, обуславливая возобновление периода вегетации растений (Варфоломеева, 2009; Бадьин и др., 2023).

Сезонные изменения температуры в оранжереях приводят к значительным колебаниям численности вредителей в течение года. На фоне зимних температур у фитофагов отмечается снижение динамики численности. Однако такие температуры субоптимальны и для многих энтомофагов. В этих условиях они демонстрируют низкую эффективность и не размножаются. И нередко фитофаг обладает большей устойчивостью к низким температурам, чем его энтомофаг. Одним из путей преодоления отрицательного влияния субоптимальных температур на энтомофагов может стать применение холодоустойчивых культур. Такой прием успешно применялся в Полярно-Альпийском ботаническом саду-институте им. Н.А. Аврорина (Рак, 2000).

Среди энтомофагов мучнистых червецов в оранжереях наиболее широко используют коровку криптолемуса — *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera, Coccinellidae) (Golan et al., 2004; Suvac, 2011; Richter, 2009; Poyet, 2010; Altieri et al., 2016; Dugardin, Goetghebeuri, 2018; Ives, 2020). Этот вид существенно снижает свою эффективность и репродуктивный потенциал при температуре ниже 20 °С, поэтому его рекомендовано использовать методом сезонной колонизации в летний период (Hussey, Scopes, 1985). Размножение криптолемуса имеет решающее значение, поскольку личинки IV возраста обладают наибольшей прожорливостью, однако расчет на колонизацию криптолемуса часто не оправдывает себя (Бугаева, 2004; Pijnakker et al., 2013; Dugardin, Goetghebeuri, 2018; Ives, 2020).

Для динамики численности мучнистых червецов характерны весенние вспышки, обусловленные повышением температуры и активацией роста растений, поэтому к началу лета численность вредителя в оранжереях способна достигать высоких значений. В отличие от своей жертвы весенние температуры для криптолемуса субоптимальны. Кроме того, даже на фоне оптимальных температур личинки хищника появляются с задержкой, и до наступления пика их активности вредитель может успеть нанести существенный ущерб растениям. Аналогичные закономерности выявляли в плодовых садах некоторых стран Средиземноморского бассейна. Более высокие требования хищника к температуре по сравнению с его жертвами назывались в качестве одной из причин низкой эффективности летней колонизации криптолемуса. Несмотря на размножение хищника, вредитель успевал нанести повреждения плодам (Franco et al., 2004; Perez-Rodriguez et al., 2019).

Размножение криптолемуса может ограничиваться рядом факторов. Среди них следует назвать высокие температуры, нередко отмечаемые в оранжереях летом

(≥ 32 °С). Такие температуры оказывают пагубное воздействие на репродуктивную функцию самок хищника (Saeedi et al., 2015). Еще одним препятствием для колонизации способны стать биологические особенности жертвы. Самки криптолемуса откладывают яйца в овисаки (яйцевые мешки) мучнистых червецов (Merlin et al., 1996). Однако в оранжереях может присутствовать щетинистый червец — *Pseudococcus longispinus* Targioni Tozzetti (Варфоломеева, Другова, 2009; Кузнецова, 2010; Altieri et al., 2016; Dugardin, Goetghebeuri, 2018; Ives, 2020; Poyet, 2010; Tuca et al., 2010; Valiyeva et al., 2018). Этому виду свойственно яйцеживорождение, и он не образует овисаки. Поэтому размножение криптолемуса не происходит (Ives, 2020). В Ботаническом саду Петра Великого (Санкт-Петербург, Россия) этот вид присутствует локально в оранжерее «Высшие споровые и Голосеменные растения» на саговниках. Колонизации хищника на этих растениях мы не наблюдали. В большинстве оранжерей Ботанического сада Петра Великого в период с 2010 по 2015 гг. присутствовал виноградный мучнистый червец *Planococcus ficus* Signoret (Hemiptera, Pseudococcidae). В 2010–2011 гг. нами осуществлялись выпуски криптолемуса в течение летнего сезона. Лето 2010 г. отличалось периодом экстремально высокой температуры воздуха, из-за чего полноценная колонизация хищника в оранжереях не была получена (Варфоломеева, Поликарпова, 2011). В 2011 г., несмотря на присутствие в оранжереях личинок криптолемуса, декоративность растений пострадала из-за развития сажистых грибов. Основной причиной был признан высокий уровень заселения растений вредителем, отмечаемый в начале лета. Исходя из полученного негативного опыта, нами был начат поиск альтернативы методу летней сезонной колонизации криптолемуса.

На территории г. Сочи за период 2011–2012 гг. отмечалось 2-кратное увеличение численности *C. montrouzieri*, в связи с чем было высказано предположение об успешной акклиматизации хищника на Черноморском побережье Кавказа. От собранных в природе особей криптолемуса в ВИЗР была заложена лабораторная культура. В ходе лабораторных экспериментов было установлено, что личинки сочинской культуры обладает большей устойчивостью к температуре 16 °С. Это выражалось в повышении выживаемости и сокращении сроков развития по сравнению с личинками стандартной культуры хищника (Белякова, Поликарпова, 2012). Установление холодоустойчивости сочинской культуры криптолемуса стало предпосылкой для ее использования в условиях оранжерей Ботанического сада БИН РАН в зимне-весенний период. Целью работы было изучить возможность использования имаго холодоустойчивых культур криптолемуса в зимне-весенний период для подавления весенней вспышки численности мучнистого червеца.

Материалы и методы

Исследования проводились в Ботаническом саду Петра Великого Ботанического института им. В.Л. Комарова (Россия, Санкт-Петербург) в период с 2011 по 2015 гг. В двух тропических оранжереях для борьбы с виноградным мучнистым червецом — *Planococcus ficus* Signoret (Hemiptera, Pseudococcidae) применяли холодоустойчивые культуры кокцидофага криптолемуса — *Cryptolaemus*

montrouzieri Mulsant (Coleoptera, Coccinellidae). Лабораторные культуры сочинской популяции закладывались в лаборатории Биологической защиты растений ВИЗР (Россия, Санкт-Петербург) ежегодно осенью от природных особей, собранных в г. Сочи (Россия). Сухумская культура была заложена осенью 2012 г. от природных особей, собранных в г. Сухум (Абхазия).

Имаго криптолемуса выпускали в оранжереях: «Плодовые растения тропиков» (№ 20, общая площадь – 505 м²) и «Большой пальмовой оранжерее» (№ 26, общая площадь – 780 м², высота в коньке – 23.5 м). В таблице 1 представлены данные о количестве выпущенных в течение года особей криптолемуса в период с 2011 по 2015 гг.

В зимне-весенний период 2011–2012 гг. в оранжерее № 20 была протестирована сочинская культура криптолемуса. В зимне-весенний период 2012–2013 гг. в эту оранжерею выпускали особей различных культур. А, начиная с сентября 2013 г., круглогодично применяли сухумскую культуру хищника. В оранжерее № 26 с октября 2012 г. круглогодично выпускали особей сочинской культуры.

Проводили учеты численности мучнистого червеца и выявляли личинок криптолемуса на модельных растениях. В оранжерее №20 – на кофе (*Coffea arabica* L.), манго (*Mangifera indica* L.), тектоне (*Tectona grandis* L.) и какао

(*Theobroma cacao* L.). В оранжерее №26 – на комбретуме (*Combretum fruticosum* (Loefl.) Stuntz), птихосперме (*Ptychosperma elegans* (R. Br.) Blume) и цедреле (*Cedrela glaziovii* C.DC.). Растения обследовались еженедельно. Учеты численности вредителя проводили на десяти листьях каждого модельного растения с последующим расчетом среднего значения. Дополнительно использовалась балльная оценка заселенности растений мучнистыми червецами, основанная на плотности вредителя на один лист (Варфоломеева, 2009). Приняты следующие интервалы значений: 1 балл — 10–20 особей; 2 балла — 21–50 особей и 3 балла — 51–100 особей на лист.

Оранжереи № 20 и № 26 относятся к теплым тропическим. В таблице 2 приведены усредненные значения температуры воздуха, рекомендованные для такого типа оранжерей, в зависимости от сезона.

Таблица 1. Количество выпущенных особей имаго криптолемуса в оранжерее «Плодовые растения тропиков» и «Большой пальмовой оранжерее» Ботанического сада Петра Великого в период с 2011 по 2015 гг.

Table 1. The number of *Cryptolaemus* adults released in the Tropical Fruit Plants greenhouse and the Large Palm Greenhouse at the Peter the Great Botanical Garden from 2011 to 2015

Оранжерея Greenhouse	Культура криптолемуса Cryptolaemus culture	2011	2012	2013	2014	2015
№20	лабораторная / laboratory	700	80	980		
	сочинская / Sochi	300	850			
	сухумская / Sukhumi		55	1470	970	1075
	Bcero / Total	1000	985	2450	970	1075
№26	лабораторная / laboratory		1170	770		120
	сочинская / Sochi		635	2750	1250	2610
	Bcero / Total		1805	3520	1250	2730

Таблица 2. Температурный режим теплых тропических оранжерей Ботанического сада Петра Великого в 2011–2015 гг.

Table 2. Temperature regime of the warm tropical greenhouses at the Peter the Great Botanical Garden from 2011 to 2015

сезон season	зима winter	весна spring	лето summer	осень autumn
период period	XI–III	III–V	V–IX	IX–XI
день day	18–20	20–24	25–32	18–19
ночь night	16–17	18–20	20–24	16–17

Ночные температуры поддерживаются с 22 до 7 часов. Обходчики проводят контроль температуры круглосуточно с интервалом 4 часа. Измерения осуществляются с помощью ртутных термометров, размещенных на высоте 1 м над поверхностью земли.

В оранжерее № 26 в качестве модельных нами были выбраны крупномерные растения и учеты численности мучнистого червеца проводили на верхнем ярусе. Для выявления различия между ярусами осуществлялся мониторинг температуры на нижнем (1 м) и верхнем (16 м) ярусах. Измерения проводили с помощью ртутных термометров в 11 часов. Показания снимали в день учетов, а также дополнительно 1–3 раза в течение недели. Рассчитывали среднее значение за неделю.

Результаты исследований

В таблице 3 приведены сроки и нормы выпуска имаго холодоустойчивых культур криптолемуса в зимне-весенний период. Серым цветом выделены месяцы, в течение которых на модельных растениях отмечали личинок хищника.

В ноябре-декабре 2011 г. в оранжерее «Плодовые растения тропиков» (№ 20) были осуществлены пробные выпуски сочинской культуры криптолемуса. В декабре 2011 г. и январе 2012 г. отмечали личинок хищника. Таким образом, особи сочинской культуры были способны размножаться на фоне субоптимальных температур. В следующем сезоне выпуски холодоустойчивых культур криптолемуса

в оранжерею № 20 были продолжены, но ввиду ограниченного количества живого материала дополнительно в оранжерею выпускали особей стандартной лабораторной культуры криптолемуса. В этот период учеты численности червеца и выявление личинок криптолемуса проводили эпизодически. Поэтому для зимне-весеннего периода 2012–2013 гг. в таблице указано только общее количество выпущенных особей хищника. В зимне-весенний период 2013–2014 гг. в оранжерею выпускали имаго сухумской культуры криптолемуса. Личинок хищника выявляли с декабря по май.

В 2012–2013 гг. в оранжерее № 26 осуществлялся выпуск сочинской культуры криптолемуса. На рисунке 1 приведены графики динамики численности мучнистого червеца на комбретуме, птихосперме и цедреле. А также значение температуры воздуха на нижнем и верхнем ярусах.

Как видно из рисунка 1, температура воздуха в оранжерее № 26 на верхнем ярусе в период с ноября по конец марта была стабильно ниже. До конца февраля значения составляли 17–18 °С, и лишь в апреле температура стала выше 20 °С. Рост численности мучнистого червеца отмечался в конце февраля на всех модельных растениях. И на комбретуме значения достигли 1 балла. Непрерывное присутствие на растениях личинок криптолемуса наблюдалось с конца января до середины марта. При этом в январе и марте были обнаружены куколки криптолемуса. К концу

марта численность вредителя была снижена. Повторное нарастание численности наблюдалось в апреле. Личинок хищника в это время не отмечалось. После двукратного выпуска криптолемуса в конце марта и начале апреля к началу мая численность червеца удалось снизить.

На рисунке 2 представлена динамика численности мучнистого червеца на кофе и манго в осенне-весенний период 2014–2015 гг. На протяжении осенне-зимнего периода численность червеца не превышала значения 4 особи на лист. В январе личинок криптолемуса начали выявлять за неделю до выпуска имаго, что свидетельствовало о присутствии в оранжерее самок хищника. Это могли быть либо выпущенные нами ранее особи, либо их потомки – личинок в оранжерее отмечали в октябре. В апреле на кофе были обнаружены куколки криптолемуса.

Таблица 3. Многолетняя колонизация холодоустойчивых культур криптолемуса в оранжереях Ботанического сада БИН РАН в зимне-весенний период

Table 3. Long-term colonization of cold-resistant *Cryptolaemus* cultures in the greenhouses of the Botanical Garden at the Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences during the winter-spring period

	Культура криптолемуса <i>Cryptolaemus</i> culture	IX	XII	I	II	III	IV	V	Всего Total
Оранжерея Greenhouse №20	Плодовые растения тропиков (общая площадь 505 м ²) Tropical fruit plants (total area 505 m ²)								
2011–2012 г	сочинская / Sochi	180	120				200		500
2012–2013 г	разные / mixture								1040
2013–2014 г	сухумская / Sukhumi	270	380	100	200		280	190	1420
2014–2015 г	сухумская / Sukhumi			420			90	170	680
Оранжерея Greenhouse №26	Большая пальмовая (общая площадь 780 м ²) Large palm (total area 780 m ²)								
2012–2013 г	сочинская / Sochi	150	225	260	180	300	200		1315

Примечание: цифрами обозначены нормы выпуска имаго криптолемуса; цветом выделены месяцы, в течение которых выявляли личинок криптолемуса.

Note: Numbers indicate release rates for adult *Cryptolaemus*; colors indicate months during which *Cryptolaemus* larvae were identified.

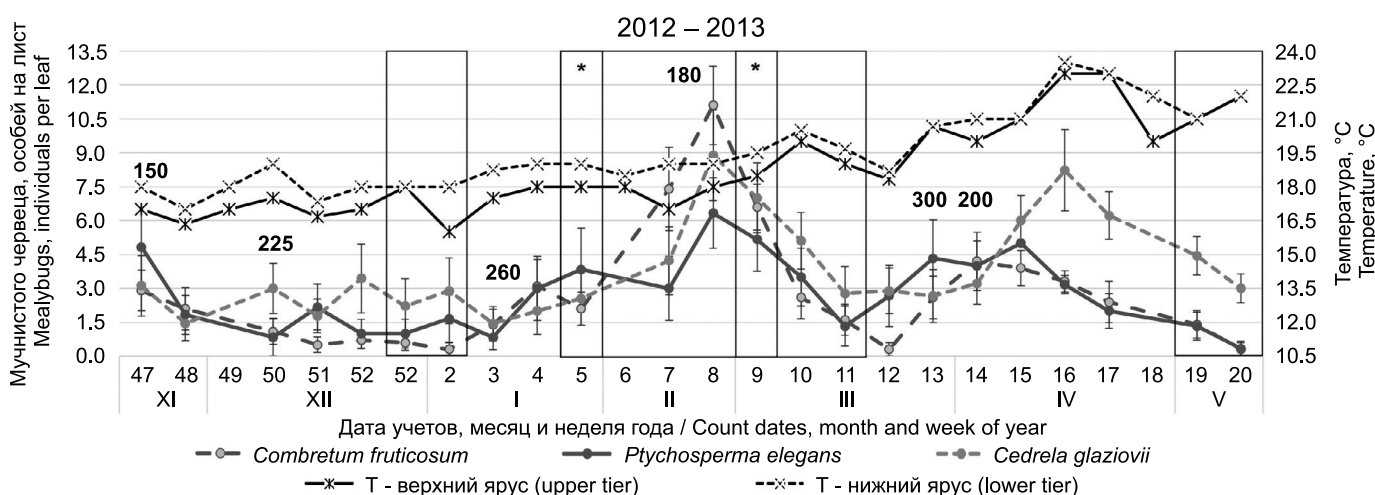


Рисунок 1. Динамика численности мучнистого червеца *Planococcus ficus* при выпусках сочинской культуры криптолемуса в «Большой пальмовой оранжерее» Ботанического сада БИН РАН в зимне-весенний период 2012–2013 гг. Рамками обозначены временные интервалы выявления на модельных растениях личинок криптолемуса. Звездочкой (*) обозначены сроки обнаружения куколок хищника. Цифрами обозначено количество выпущенных имаго криптолемуса

Figure 1. Population dynamics of the mealybug *Planococcus ficus* following releases of the Sochi *Cryptolaemus* culture in the “Large Palm Greenhouse” of the Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences during the winter-spring period of 2012–2013. The frames indicate the time intervals during which *Cryptolaemus* larvae were detected on the model plants. The asterisk (*) denotes the time of detection of predator pupae. The numbers represent the quantity of *Cryptolaemus* adults released

На рисунке 3 приведены графики многолетней динамики численности мучнистого червеца на кофе при использовании холодоустойчивых культур (нормы выпуска обозначены цифрами). Данные сгруппированы по трем сезонам: зима, весна и лето. Также приведены данные летнего сезона 2011 г., когда в оранжерее выпускали особей стандартной лабораторной культуры методом сезонной колонизации.

В ноябре 2011 г. плотность червеца на кофе достигала значений 30 особей на лист (2 балла). В 2013 г. в течение всего зимнего сезона значения не превышали 10 особей, а в 2014 г. – 5 особей на лист. В начале апреля 2012 г. численность достигала значений – 11 особей на лист (1 балл). В 2014 и 2015 г. на протяжении всего весеннего сезона

плотность не превышала 3 особи на лист. При сравнении летних сезонов отмечалось не только относительное снижение численности вредителя, но и сдвиг ее пика. Так, в конце июня 2011 г. значения превышали 30 особей на лист (2 балла). Летом 2012 г. пик численности пришелся на начало августа и достиг 13 особей на лист (1 балл). А в конце августа 2014 г. численность составляла 5 особей. Следует отметить, что результат был получен с использованием более низких норм выпуска летом: в 2011 г. – 700 особей стандартной лабораторной культуры, в 2012 г. – 530 особей сочинской культуры, а в 2014 г. – 200 особей сухумской культуры хищника. При этом в 2014 г. хищник был выпущен только в конце сезона.

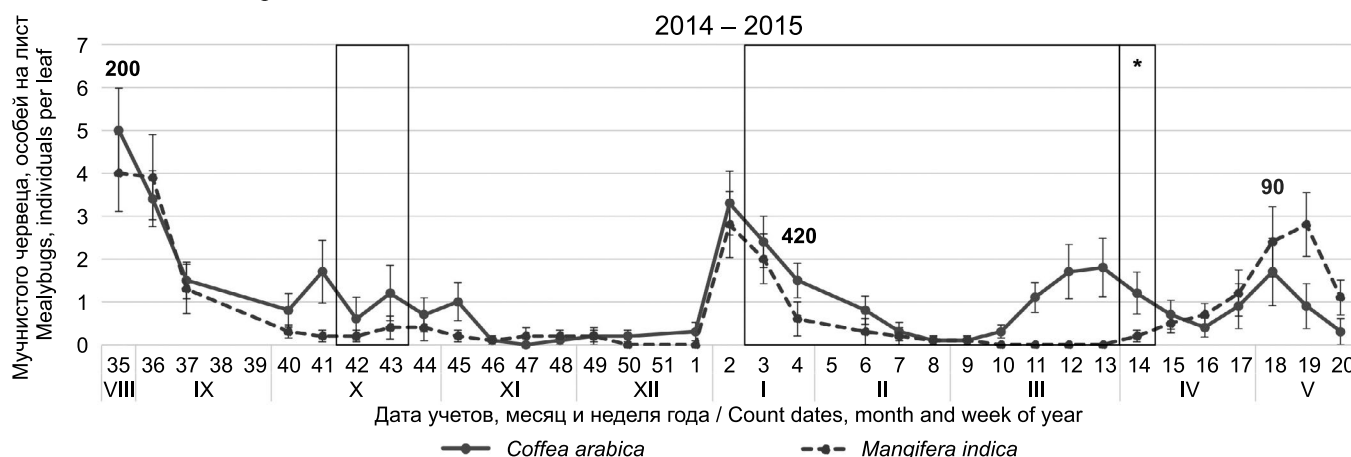


Рисунок 2. Динамика численности мучнистого червеца — *Planococcus ficus* при выпусках сухумской культуры криптолемуса в оранжерее «Фруктовые растения тропиков» Ботанического сада БИН РАН в осенне-весенний период 2014–2015 гг. Рамками обозначены временные интервалы выявления на модельных растениях личинок криптолемуса. Звездочкой (*) обозначены сроки обнаружения куколок хищника. Цифрами обозначено количество выпущенных имаго криптолемуса

Figure 2. Population dynamics of the mealybug *Planococcus ficus* following releases of the Sukhumi *Cryptolaemus* culture in the “Fruit Plants of the Tropics” greenhouse at the Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences during the fall-spring period of 2014–2015. The frames indicate the time intervals during which *Cryptolaemus* larvae were detected on the model plants. The asterisk (*) denotes the detection of predator pupae. The numbers represent the quantity of *Cryptolaemus* adults released

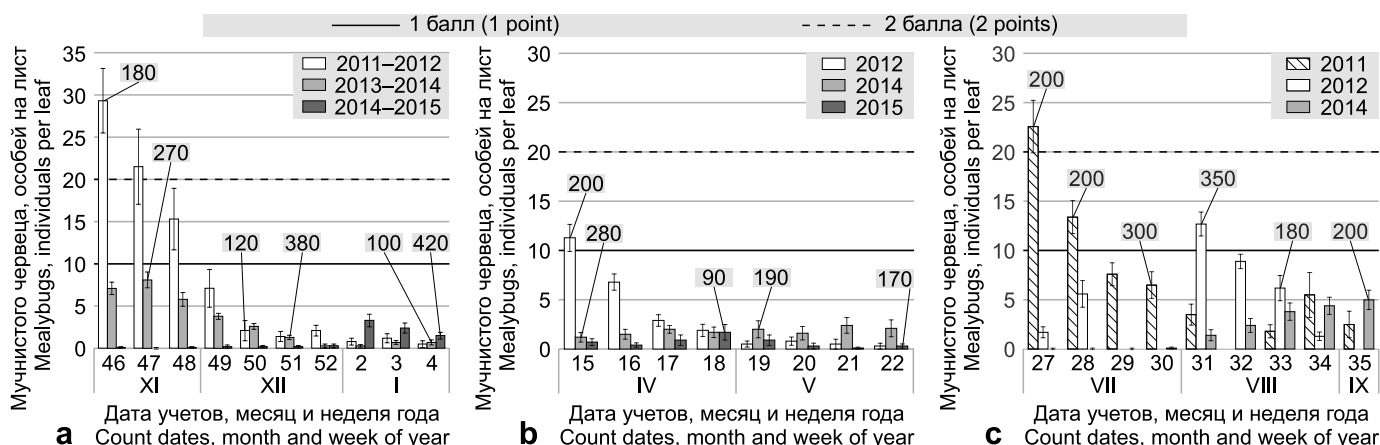


Рисунок 3. Многолетняя динамика численности мучнистого червеца — *Planococcus ficus* на *Coffea arabica* в оранжерее «Фруктовые растения тропиков» Ботанического сада БИН РАН: а) зима, б) весна, в) лето.

В 2011 г. на 32 неделе; в 2012 г. на 29, 30 и 35 неделе года учеты не были проведены.

Цифрами на диаграмме обозначено количество выпущенных имаго криптолемуса

Figure 3. Long-term population dynamics of the mealybug *Planococcus ficus* on *Coffea arabica* in the “Fruit Plants of the Tropics” greenhouse at the Botanical Institute of the Russian Academy of Sciences: a) Winter, b) Spring, c) Summer.

In 2011, counts were conducted at week 32; in 2012, no counts were performed at weeks 29, 30, and 35.

The numbers in the diagram indicate the quantity of released adult *Cryptolaemus*

Обсуждение

Наши результаты показали, что выпуски в оранже-рей «Плодовые растения тропиков» (№ 20) и «Большую пальмовую оранже-рею» (№26) имаго холодоустойчивых культур криптолемуса позволило получить колонизацию в зимне-весенний период на фоне субоптимальных темпе-ратур. В предыдущие годы (2002–2009 гг.) при использо-вании стандартной лабораторной культуры криптолемуса личинок позднее октября в оранже-реях не обнаруживали. При этом был зафиксирован единичный случай перези-мовки имаго хищника (Варфоломеева, 2009).

Личинки холодоустойчивых культур криптолемуса, находящиеся в оранже-реях с января по март подавляли ве-сеннюю вспышку численности вредителя, благодаря чему в начале лета наблюдалась низкая заселенность растений вредителем. В свою очередь это создавало благоприятные предпосылки для удержания его численности летом на уровне, не приносящем существенный вред растениям.

Следует подчеркнуть, что в ходе исследования в боль-шинстве оранже-рей отмечался виноградный мучнистый червец – *P. ficus*. Если бы преобладающим видов был ще-тинистый червец – *P. longispinus*, получить колонизацию хищника не представлялось бы возможным.

Наряду со снижением численности червца в течение одного календарного года, нами отмечалось постепенное уменьшение значений заселенности растений вредителем на протяжении нескольких лет. В настоящей работе это показано на примере кофе. В первые годы заселенность этого растения червцом достигала 2-х баллов, а затем была ниже 1 балла. Выявление таких закономерностей многолетней динамики вредителя мы связываем с регу-лярным применением холодоустойчивых культур хищни-ка в зимне-весенний период.

В литературе имеются сведения об успешной реал-изации многолетних программ борьбы с мучнистыми червцами в оранже-реях трех ботанических садов. Бота-нического сада Гентского университета (Бельгия) – Ghent University Botanical Garden (GUBG); Ботанического сада Кембриджского университета (Англия) – Cambridge

University Botanic Garden (CUBG) и Королевского Бота-нического сада Эдинбурга (Шотландия) – Royal Botanic Garden Edinburgh (RBGE) (Dugardin, Goetghebeuri, 2018; Ives, 2020).

В этих садах летняя колонизация имаго криптолемуса была признана неэффективной. Главным агентом борьбы стали личинки II возраста хищника. Предпосылкой для их использования в немалой степени послужила коммерче-ская доступность такого продукта. При этом были скор-ректированы сроки проведения защитных мероприятий. В оранже-реях GUBG в первые годы зимой практиковали хи-мические обработки по очагам, а затем весной выпускали личинок криптолемуса. В CUBG и RBGE полностью отка-зались от применения инсектицидов. Ключевым приемом в этих программах стали наводняющие выпуски личинок весной и летом (до 1000 особей на одно крупномерное растение). Массовые выпуски позволяли в сжатые сроки сокращать численность вредителя. Такие мероприятия проводили в первые 1–2 года. В последующие годы нормы и кратности выпусков уменьшались. Но благодаря введе-нию в ценоз личинок ранней весной удавалось подавлять вспышку численности червца.

Использованные нами холодоустойчивые культуры криптолемуса показали способность размножаться в oran-жерях в зимне-весенний период на фоне температуры 17–18°C. С нашей точки зрения именно благодаря при-сутствию в оранже-реях личинок хищника в январе-марте удавалось подавить рост численности мучнистого червца весной. Однако открытыми остаются вопросы опреде-ления кратностей и норм выпуска имаго. При разрабо-тке практических рекомендаций, также следует принять во внимание рост коммерческой доступности личинок криптолемуса II возраста. Поэтому наряду с дальнейшим изучением холодоустойчивых культур хищника необходи-мо провести тестирование в оранже-реях в весенний пери-од личинок II возраста, выращенных в условиях массового производства.

Благодарности

Авторы выражают огромную благодарность ведущему сотруднику ВИЗР к.б.н. А.Г. Ковалю за сбор природных особей криптолемуса на Черноморском побережье Кавказа.

Работа выполнена в рамках государственного задания по плановой теме «История создания, состояние, потенциал развития живых коллекций растений Ботанического сада Петра Великого БИН РАН», номер 124020100075-2.

Библиографический список (References)

- Бадьин АВ, Суслев В.И., Саркисян АС, Казанин ВА, Ланин ЕВ, Южаков МС (2023) Применение системы удаленно-го мониторинга динамики атмосферных параметров в Сибирском ботаническом саду Томского государствен-ного университета. *Экосистемы* 34:5–14
- Белякова НА, Поликарпова ЮБ (2012) Акклиматизация *Harmonia axyridis* Pall. и *Cryptolaemus montrouzieri* Muls. (Coccinellidae, Coleoptera) на Черноморском побережье Кавказа. *Вестник защиты растений* 4:43–48
- Бугаева ЛН (2004) Биологическое обоснование техно-логии массового разведения и применения крипто-лемуса *Cryptolaemus montrouzieri* Muls. (Coleoptera, Coccinellidae) для защиты растений. *Дисс. ... к.б.н.* СПб-Пушкин. 112 с
- Варфоломеева ЕА (2009) Биоцено-тическое обоснование применения энтомофагов в оранже-реях ботанических садов Северо-Запада России. *Дисс. ... к.б.н.* СПб-Пуш-кин. 187 с.
- Варфоломеева ЕА, Другова ЕВ (2009) Многолетняя ди-намика видового состава и пищевых связей фитофагов на оранже-рейных растениях в ботанических садах Се-веро-Западного региона. *Труды Ставропольского отде-ления Русского энтомологического общества* 5:197–201
- Варфоломеева ЕА, Поликарпова ЮБ (2011) Влияние высокой температуры на эффективность кокцидофа-га *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant в условиях oran-жерей ботанического сада Санкт-Петербурга. *Труды*

- Ставропольского отделения Русского энтомологического общества 7:169–170
- Кудряшова ЛЮ (2015). Особенности биологии американского трипса *Echinothrips americanus* Morgan и приемы борьбы с ним в оранжереях Северо-Запада. Дисс. ... к.б.н. СПб-Пушкин. 148 с.
- Кузнецова НП (2010) Комплексная система защиты интродуцированных растений от вредителей в Сибирском ботаническом саду ТГУ. *Труды Томского Государственного университета* 274:221–223
- Моор ВВ (2024) Обоснование использования энтомоакарифагов для борьбы с сосущими вредителями в теплицах в условиях малообъемной технологии выращивания роз. Дисс. ... к.б.н. СПб-Пушкин. 261 с.
- Рак НС (2000) Особенности биологической защиты растений в оранжереях Заполярья. Дисс. ... к.б.н. СПб-Пушкин. 161 с.
- Рак НС, Литвинова СВ (2014) Мягкая ложнощитовка *Coccus hesperidum* L. в оранжерее полярно-альпийского ботанического сада. *Вестник защиты растений* 3:67–70
- Рак НС, Литвинова СВ, Напарьева МВ (2014) Мониторинг вредителей из подотряда Coccinea в коллекционной оранжерее Полярно-альпийского ботанического сада. *Hortus botanicus* 9:125–132
- Судейманова ЗН (2013) Методика защиты от болезней и вредителей тропических и субтропических растений в оранжерее. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук* 15(3–4):1444–1446
- Трикоз НН, Андреев РО, Шевцов СИ (2021) Сосущие виды вредителей декоративных культур в условиях Южного берега Крыма. *Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада* 139:135–142. <https://doi.org/10.36305/0513-1634-2021-139-135-142>
- Щуковская АГ, Каштанова ОА (2016) Применение криптолемуса в условиях отделения "Тропический лес" Новой фондовой оранжереи ГБС им. НВ Цицина РАН г. Москва. Материалы Международной научно-практической конференции «Биологическая защита растений — основа стабилизации агроэкосистем». 96:327–329
- Altieri G, Bianchi M, Capacci A, Clauser M, Fabiani L et al. (2016) Biological control of pests in Botanic garden «Giardino dei Semplici» of Florence. Book of abstract 111 Congresso della Società Botanica Italiana. 92
- Dugardin C, Goetghebeur P (2018) Coping with pests in a small botanic garden: 20 years of integrated pest management. Proc. World. 8th European Garden Congress «Botanic Gardens, People and Plants for a Sustainable». 18–24
- Franco JC, Suma P, Borges da Silva E, Blumberg D, Mendel Z (2004) Management strategies of mealybug pests of citrus in Mediterranean countries. *Phytoparasitica* 32(5):507–522
- Golan K, Gorska-Drabik E, Jaskiewicz B (2004) Studies on pest control in greenhouses of the Botanical Garden in Lublin (Poland). *Latvian J Agron* 7: 43–48
- Hussey NW, Scopes N (1985) Biological pest control. Ithaca, NY, USA: Cornell University Press. 240 p.
- Ives J (2020). Biological controls in botanic gardens. *Sibbaldia: The International Journal of Botanic Garden Horticulture* 18:117–125
- Merlin J, Lemaitre O, Grégoire JC (1996) Oviposition in *Cryptolaemus montrouzieri* stimulated by wax filaments of its prey. *Entomol Exp Appl* 79 (2):141–146. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1996.tb00819.x>
- Pérez-Rodríguez J, Miksanekc JR, Selfab J, Martínez-Blayd V, Soto A et al. (2019) Field evaluation of *Cryptolaemus montrouzieri* (Mulsant) (Coleoptera: Coccinellidae) as biological control agent of the mealybug *Delottococcus aberiae* De Lotto (Hemiptera: Pseudococcidae). *Biol Control* 138:104027. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104027>
- Pijnakker J, Leman A, Hennekam M (2013) Geïntegreerde bestrijding van citruswolluis *Planococcus citri* in roos. Wageningen UR Glastuinbouw. 1238
- Poyet N (2010) Poursuivre la lute integree. *Revue du Jardin botanique de la ville de Lyon* 2:48–49
- Richter E (2009) Nützlingseinsatz im Zierpflanzenbau unter Glas: Handbuch zum praktischen Arbeiten; Ergebnisse aus den Verbundvorhaben "Nützlinge I" und "Nützlinge II".
- Rutherford J, Marvin S (2025) Climate-controlled conservation: Remaking 'the botanical metropolis of the world'. *Transactions of the Institute of British Geographers* 50 (2) – C. e12701. <https://doi.org/10.1111/tran.12701>
- Saeedi N, Damavandian MR, Moghanloo HD (2015) Effects of temperature on population growth parameters of *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera: Coccinellidae) reared on *Planococcus citri* (Homoptera: Pseudococcidae). *Arthropods* 4(3):78–89
- Shukla PK, Gundappa G, Adak T (2017) Development of sooty moulds in mango orchards in relation to weather parameters and major sucking pests. *J Environ Biol* 38:1293–1300. <http://doi.org/10.22438/jeb/38/6/MRN-482>
- Suvák M (2011) Predatory and parasitic insects in greenhouses of Botanical Garden of PJ Šafárik University in Košice, Slovakia. *Thaiszia-J. Bot.* 21:185–205
- Tuca OA, Stan C, Mitrea I, Stan I (2010) Quantification of the main harmful species attack on ornamental plants in greenhouses of the botanical garden "alexandra Buia", Craiova. *Bulletin UASVM Horticulture* 67(1):399–402
- Valiyeva B, Murzova TV, Likhacheva TV (2018) Monitoring of greenhouse pests in botanical gardens of Kazakhstan and control. *Eur J Nat Hist* 4:12–16

Translation of Russian References

- Badin A. V., Suslyayev V. I., Sarkisyan A. S., Kazanin V. A., Lanin E. V., Yuzhakov M. S. (2023) [Application of the system of remote monitoring of atmospheric parameters dynamics in the Siberian Botanical Garden of Tomsk State University]. *Ekosistemy* 34:5–14 (In Russian)
- Belyakova NA, Polikarpova YB (2012) [Harmonia axyridis and Cryptolaemus montrouzieri acclimatization at the Black Sea coast of the Caucasus]. *Vestnik zashchity rasteniy* 4:43–48 (In Russian)
- Bugaeva LN (2004) [Biological substantiation of the technology of mass breeding and use of *Cryptolaemus montrouzieri* Muls. (Coleoptera, Coccinellidae) for plant protection]. Diss. ... PhD St. Petersburg-Pushkin. 112 p. (In Russian)
- Varfolomeeva EA (2009) [Biocenotic justification for the use of entomophages in greenhouses of botanical gardens in Northwest Russia]. Diss. ... PhD St. Petersburg-Pushkin. 187 p. (In Russian)

- Varfolomeeva EA, Drugova EV (2009) [Long-term dynamics of species composition and food chains of phytophages on greenhouse plants in botanical gardens of the Northwest region]. *Trudy Stavropolskogo otdeleniya Russkogo entomologicheskogo obshchestva* 5:197–201 (In Russian)
- Varfolomeeva EA, Polikarpova YuB (2011) [Impact of high temperature on the *Cryptolaemus montrouzieri* efficacy in greenhouses of St.-Petersburg's Botanic Garden]. *Trudy Stavropolskogo otdeleniya Russkogo entomologicheskogo obshchestva* 7:169–170 (In Russian)
- Kudryashova LYu (2015). [Biological Features of the American Thrips *Echinothrips americanus* Morgan and Control Methods in Greenhouses of the Northwest]. Diss. ... Cand. Sci. (Biology). St. Petersburg-Pushkin. 148 p. (In Russian)
- Kuznetsova NP (2010) [Complex system of protection introduction plants from wreckers in the Siberian Botanical Garden of TSU]. *Trudy Tomskogo Gosudarstvennogo universiteta* 274: 221–223 (In Russian)
- Moor VV (2024) [Justification for the Use of Entomoacariphages to Control Sucking Pests in Greenhouses under Low-Volume Rose Growing Technology]. Diss. ... Cand. Sci. (Biology). St. Petersburg-Pushkin. 261 p. (In Russian)
- Rak NS (2000) [Features of Biological Plant Protection in Greenhouses of the Arctic]. Diss. ... Cand. Sci. (Biology). St. Petersburg-Pushkin. 161 p. (In Russian)
- Rak NS, Litvinova SV (2014) [*Coccus hesperidum* L. in greenhouse of the Polar-Alpine Botanical Garden-institute]. *Vestnik zashchity rasteniy* 3:67–70 (In Russian)
- Rak NS, Litvinova SV, Naparieva MV (2014) [Monitoring of pests of Coccinea suborder in the collection greenhouses at Polar-Alpine Botanical Garden]. *Hortus botanicus* 9:125–132 (In Russian)
- Suleimanova ZN (2013) Technique of protection against diseases and wreckers of tropical and subtropical plants in the green-house]. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk* 15(3–4):1444–1446 (In Russian)
- Trikoz NN, Andreev RO, Shevtsov SI (2021) [Species of sucking pests of ornamental crops in the conditions of the Southern Coast of Crimea]. *Byulleten Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada* 139:135–142. <https://doi.org/10.36305/0513-1634-2021-139-135-142> (In Russian)
- Shchukovskaya AG, Kashtanova OA (2016) [The introduction of the *Cryptolaemus* in “Rainforest” of the New stock conservatory of Central Botanical Garden, RAS (Moscow)]. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference “Biological Plant Protection — the Basis for Stabilizing Agroecosystems.” 96:327–329 (In Russian)

Plant Protection News, 2025, 108(3), p. 149–156

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2025-108-3-17221>

Full-text article

A NOVEL APPROACH OF USING *CRYPTOLAEMUS MONTROUZIERI* (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) IN GREENHOUSES OF BOTANICAL GARDENS

Yu.B. Polikarpova^{1*}, E.A. Varfolomeeva²

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

²Komarov Botanical Institute Russian Academy of Science, St. Petersburg, Russia

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

Mealybug infestations remain a significant challenge in botanical garden greenhouses. Conventional summer deployment of the mealybug-feeding *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera: Coccinellidae) often proves ineffective. This study aimed to evaluate the feasibility of using adult, cold-resistant *Cryptolaemus* cultures during winter and spring to suppress early mealybug outbreaks. Laboratory cultures were established from wild specimens collected along the Black Sea coast of the Caucasus. The field experiments were conducted in two tropical greenhouses at the Peter the Great Botanical Garden (St. Petersburg, Russia). Populations of mealybug *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae) and the predator's larvae were monitored on seven model plant species. In the “Tropical Fruit Plants” greenhouse, experiments were conducted on *Coffea arabica*, *Mangifera indica*, *Tectona grandis*, and *Theobroma cacao*. In the “Large Palm Greenhouse,” the trials involved *Combretum fruticosum*, *Ptychosperma elegans*, and *Cedrela glaziovii*. Results demonstrated that cold-tolerant *Cryptolaemus* individuals could reproduce at 17–18 °C. Predator's larvae, observed from January to March, effectively suppressed mealybug population growth during spring. This suppression created favorable conditions for pest management in the subsequent summer. A long-term program utilizing cold-resistant *Cryptolaemus* cultivars allowed maintaining the mealybug populations at levels not causing significant damage to the plants, indicating a sustainable and effective biological control strategy for greenhouse environment.

Keywords: cold-tolerant crops, *Cryptolaemus*, mealybugs, Pseudococcidae, tropical plants, perennial control programs

Submitted: 06.08.2025

Accepted: 14.10.2025

SALIVARY GLAND ALPHA-AMYLASES RETAIN ACTIVITY IN WHEAT GRAINS DAMAGED BY *EURYGASTER* (HETEROPTERA: SCUTELLERIDAE) SUNN BUGS

Al.V. Konarev^{1,2,*}, A.V. Kapustkina¹

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

²N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources (VIR), St. Petersburg, Russia

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

The Sunn pest *Eurygaster integriceps* and related wheat bugs (Sunn bugs) cause great damage to the wheat crop by injecting hydrolytic enzymes into the grain that liquefy the endosperm during extraintestinal digestion. The main harmful factor of bugs is considered to be their proteases, which are retained in the endosperm of damaged grain and flour and hydrolyze gluten proteins during dough kneading. Thus, the quality of bread deteriorates sharply. Salivary gland proteases provide protein nutrition for the wheat bugs. However, the main source of energy that allows them to accumulate fat necessary for wintering is the endosperm starch, hydrolyzed by alpha-amylases. Alpha-amylases of wheat bug salivary glands have not been sufficiently studied. There is still no consensus on the role of these enzymes in the nutrition of bugs, on their presence in damaged mature grain, and on their influence on the technological qualities of flour, which may be partly due to the lack of methods for detecting the actual bug alpha-amylases in grain. Using a new simple method, including inactivation of plant beta-amylases interfering with the analysis by sodium p-chloromercuribenzoate, we obtained alpha-amylase banding patterns similar to the patterns of wheat bug salivary gland alpha-amylases as a result of protein isoelectric focusing of some samples of damaged grain. The developed approach can be recommended for use in the technological assessment of damaged grain, in studying the mechanisms of plant immunity to pests as well as for diagnostics of grain damage by insects.

Keywords: Sunn pest, digestive enzymes, grain quality, isoelectric focusing, damage diagnostics

Submitted: 14.07.2025

Accepted: 20.10.2025

Introduction

The Sunn pest *Eurygaster integriceps* Put. and related wheat bugs (or Sunn bugs) of the genus *Eurygaster* Lap. cause great damage to the wheat crop by injecting hydrolytic enzymes into the grain that liquefy the endosperm during extraintestinal digestion (Mehrabadi et al., 2014; Pavlyushin et al. 2015; Dizlek, 2018; Konarev, 2020; Kapustkina, Frolov, 2022; Ouaraous et al., 2025). The main factor causing harmfulness of wheat bugs is considered to be proteases remaining in the endosperm after incomplete ingestion of hydrolysis products by insects. Proteases remaining in damaged grains and flour prepared from them hydrolyze gluten proteins during dough kneading, which is why the technological qualities of flour and bread baked from it deteriorate sharply (Sivri et al., 2004; Kamenchenko et al. 2010; Salis et al., 2010; Dizlek, Özer, 2016; Konarev et al., 2019). Salivary gland proteases provide protein nutrition for bugs by converting insoluble under normal conditions grain proteins into a liquid state available for ingestion. However, the main source of energy that makes it possible to accumulate the fat necessary for bugs to overwinter is endosperm starch (Vilkova, 1980; Ghanbari et al 2022).

The main enzyme that hydrolyzes starch to maltose and dextrins, including in insects, is α -amylase (Da Lage, 2018). The important role of α -amylases for insect vital activity makes them a promising target for modern molecular approaches to plant protection (Wang et al., 2023). On the other hand, amylolytic activity is an essential element of the dough maturation process during kneading. The level of this

activity can be affected by various factors, including premature germination of grains or insect damage, which can alter the level of monosaccharides involved in fermentation processes (Dizlek and Özer, 2024).

In wheat bugs, salivary gland α -amylases have been studied to a much lesser extent than proteases, and the information about them is quite contradictory. There is still no consensus in the scientific literature on the role of salivary gland α -amylases in the nutrition of bugs, as well as on their influence on the baking and other technological qualities of flour. A number of authors believe that the salivary glands of wheat bugs produce α -amylases, which convert starch granules into a state suitable for ingestion by the insect. The process of starch digestion is completed in the intestine under the action of another set of α -amylases and carbohydrases (Vilkova 1980; Mehrabadi et al., 2009, 2014; Ravan et al., 2009; Konarev, 1996, 2020). Meanwhile some researchers find no direct relationship between wheat bug damage and the level of amylolytic activity in grain, although they confirm the destruction of starch granules in the endosperm (Lorenz and Meredith, 1988; Every et al., 1990), others confirm such a relationship (Dizlek, Özer, 2024), and still others generally deny the involvement of α -amylases of the salivary glands in the nutrition of these insects (Rosell et al., 2002). Many authors do not find α -amylases at all in the salivary glands of various representatives of the suborder Heteroptera that feed on plant seeds (unlike predatory bugs), and see the role of the secretion

of these glands only in moistening food before ingestion. They associate the assimilation of seed starch by bugs only with intestinal enzymes (Silva, Terra, 1994; Woodring et al., 2007; Rocha et al., 2014; Da Lage, 2018). Such different opinions may be related to varietal peculiarities of protective mechanisms of neutralization of foreign enzyme activity in the grain, to the phase of grain development upon damage, as to the specifics of the assay methods used.

Typically, total amylase activity in grain is determined by standard methods of technological assessment or biochemical methods (Cornaggia et al., 2016; Dizlek and Özer, 2024), which, even when using substrates specific for, for example, α -amylase, do not provide information on the origin of the enzyme being analyzed. The total amylase activity in mature intact grain is usually determined by the presence of β -amylases (Ziegler, 1999), but it can be increased by endogenous or exogenous α -amylases. As a result, it may remain unknown whether changes in amylase activity are related to insect damage or, for example, to the appearance of endogenous α -amylase during premature grain germination.

A simple approach to identifying (attributing) the enzyme would be to compare the electrophoretic or isoelectric spectra of α -amylase components (banding patterns) from salivary glands and bug-damaged grains, as was previously done for these insects' proteases (Konarev et

al., 2017). Amylolytic enzymes are usually easily detected by electrophoresis or isoelectric focusing (IEF) of proteins, followed by incubation of the gel with starch and iodine staining (Thomson et al., 1990; Ravan et al., 2009; Konarev, Lovegrove, 2012; Netsvetaev et al., 2014). Detecting insect α -amylases in grain in this way is complicated by the presence of highly active endogenous β -amylases in the extract. In the case of endogenous α -amylases of cereal grain, the problem is solved by inactivating less heat-stable β -amylases by heating at 70–71 °C (Konarev, 1982; Doehlert, Duke, 1983; Evans et al., 2003), however, insect α -amylases, including those of the *Eurygaster* bugs, are also inactivated under these conditions (Ravan et al., 2009; Mehrabadi et al., 2014). It is also known that grain β -amylases are inactivated by mercury salts, e.g., HgCl_2 , whereas the effect of these salts on α -amylases depends strongly on their origin and remains poorly studied (Doehlert, Duke, 1983). We found no information in the scientific literature on the identification of α -amylases of wheat bugs in the electrophoretic spectra of proteins of damaged wheat grains.

To determine whether active bug α -amylases are present in damaged grain, as is the case for proteases, we developed a simple method involving the selective inactivation of grain β -amylases that interfere with analysis using sodium p-chloromercuribenzoate (pCMB).

Materials and Methods

The study material consisted of grain samples from several soft and durum wheat cultivars (cv.) that were damaged by the *E. integriceps* and other *Eurygaster* bug species. The samples were obtained from different regions of Russia in 2016–2022: Krasnodar Krai (*Triticum aestivum* L. cv. Grom, Bezostaya 100, Svarog, Elanchik), Saratov Oblast (*T. aestivum* cv. Dzhangal) and Altai Krai (*T. aestivum* cv. Altayskaya 70, Altayskaya 75, Tobolskaya stepnaya, Altayskaya zhnytsa, Union; *T. durum* Desf. cv. Salyut Altaya, Oasis, Pamyati Yanchenko), as well as from Turkey in 2006 (*T. aestivum* cv. Ikizce and Bayraktar; *T. durum* cv. Ege-88). Grain samples from Turkey were kindly provided by Professors D. Sivri Ozay and H. Koksul (Hacettepe University, Ankara)

Grain material from Turkey was previously analyzed with respect to Sunn pest proteases (Konarev et al., 2013). According to the methodology adopted by the VIZR (Kapustkina and Frolov, 2022; Kapustkina, 2024), severely damaged individual grains with damage level – 3–4 points out of 5 were selected. At least ten individual damaged grains or flour from ten grains were analyzed for each sample. Grains without visible signs of damage were used as a controls. Grains were ground in a mortar. Then, proteins were extracted from the flour using a 2-fold (v/w) volume of 0.05 M Tris-HCl buffer at pH 8.5 containing 0.1 % Triton X-100 for 30 minutes. After centrifugation, the extracts were analyzed immediately or placed in a freezer after an equal volume of 80 % glycerol and 1 % CHAPS detergent was added. Detergents and glycerol preserved enzyme activity in the extracts at –24 °C for an extended period. α -amylases of the Sunn pest *E. integriceps* (Krasnodar Krai, 2015) were extracted from salivary glands stored at –80 °C by homogenization them with 0.01 % Triton X-100 with 0.5 % CHAPS (Konarev et al., 2019) followed by centrifugation.

To investigate the potential for selective inhibition of β -amylase activity and to determine the optimal conditions for analysis, 0.1 M pCMB dissolved in 0.1 M NaOH and diluted 10 times with water was added to the extract, resulting in a final concentration of 1–10 mM. Samples with high amylase activity were diluted 20-fold with the extractant; however, to simplify the comparison of results the volumes applied to the gel in terms of undiluted extract are indicated in the experiment results description.

The proteins were fractionated by IEF using IEF PhastGel gels with a pH range of 3–9 and 4–6.5 on a PhastSystem device (Pharmacia, Sweden). Instead of using the branded applicator untreated and pCMB-treated protein extracts were applied to 5x1 or 10x1 mm filter paper strips (LKB, Sweden), placed on the gel near the anode (20 pieces per gel) in a volume of 0.2–3 μl . IEF was performed at voltage 1000 V, a power 2.5 W and temperature 15 °C for 180 Vh (for pH 3–9 gels) or 230 Vh (for pH 4–6.5 gels). Protein separation was monitored using colored protein markers of isoelectric points (pI) cytochrome c (10.6) and horse myoglobin (7.3).

Amylases were detected in protein spectra using a new version of the substrate replica. To prepare the replica, 45 mg of soluble potato starch was boiled in 30 ml of water, 200 mg of agarose (SERVA, Germany, gel point 40 °C) was added to the solution which was boiled again. Then, the hot agarose solution was poured onto a GelBond film for agarose (SERVA, 250 x 125 mm), which was placed on the horizontal thermostated plate of the Multiphor II IEF device (LKB, Sweden), heated to 50 °C. The plate temperature was lowered to 5 °C for the gel to form. Then, the temperature was increased again to 50 °C and the gel was dried with a fan. Before use a fragment of the replica film was cut to the size of the area of interest in the separating gel (30 x 42 mm). It was immersed in 0.1 M Na acetate buffer (pH 5.4) containing

0.1 M NaCl for 20 seconds, overlaid on the separating gel, and covered with plastic film to protect it from drying. A weight was placed on top to ensure tight contact between the substrate replica and the gel. The entire structure was transferred to a thermostated plate and kept at 37°C for an hour. Then, the replica was immersed in an iodine solution containing 30% alcohol. Light bands on a blue background corresponded to the

components of the protein spectra with amylase activity. Dried replicas preserved the visible banding patterns for a long time. An alternative analysis method that does not require separate treatment of the samples with pCMB consisted of preliminary soaking the replica in a 0.1 M solution of this reagent diluted 20-fold in a Na-acetate buffer at pH 5.4.

Results

Loading 2 µl of protein extracts from bug-damaged (d) and intact (u) grains from different wheat samples onto a separating gel, followed by fractionation and of amylase detection, resulted in heavily overloaded lanes with barely distinguishable individual components. As an example, the Figure 1 (lanes 1 and 2) shows the results for a durum wheat sample (cv. Ege-88) from Turkey.

A slightly higher degree of “brightening” can be noted in lane 1d, corresponding to the extract from the damaged grain, compared to lane 2u in the zone of isopoints (pI) near those of the main *E. integriceps* salivary gland α-amylase components (lanes 5, 10 and 15). Loading significantly smaller volumes of the damaged grain extract (lanes 8 and 9, 0.1 and 0.02 µl)

revealed several more distinct components. Some individual components with amylase activity in lane 8 were close to the salivary gland α-amylase components (lane 10) although this banding pattern was not clear. When even smaller amounts of the extract were applied (lane 9), distinct components with relatively low pI became discernible, apparently corresponding to the main components of β-amylases, while the bands with higher pI disappeared. A similar pattern was observed when small amounts of extract were applied to analyze other grain samples. For example, damaged and undamaged cv. Grom grains from the Krasnodar region exhibited this pattern (lanes 3d and 4u).

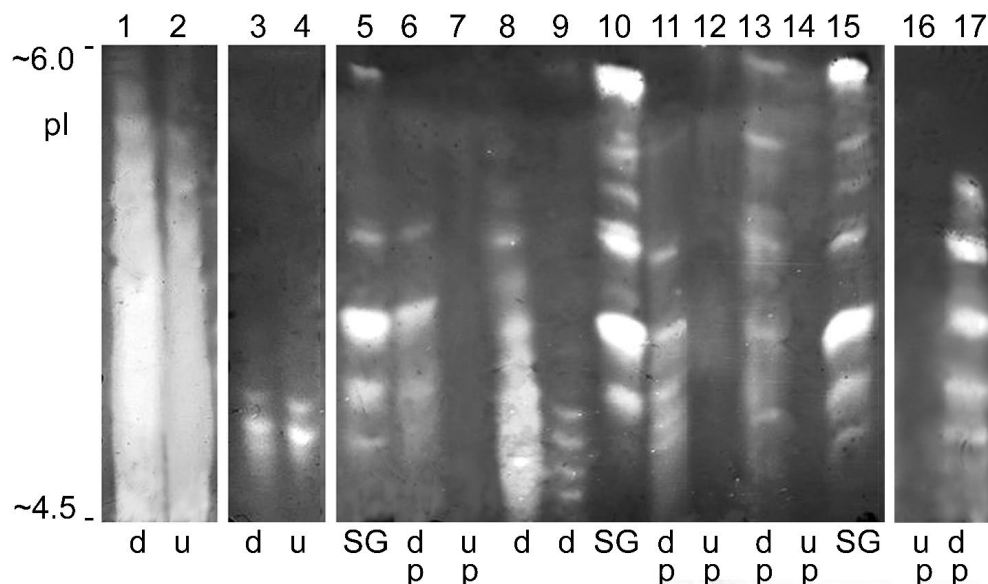


Figure 1. Detection of α-amylases from *Eurygaster* Lap. Sunn bugs in wheat grains damaged by them. Proteins were separated by isoelectric focusing (IEF) on a PhastGel with a pH range of 4–6.5. Amylases were detected using an agarose replica containing starch. d and u – extracts from damaged and undamaged grains, respectively;

SG – salivary glands of *E. integriceps* Put.; p – extracts with added sodium p-chloromercuribenzoate (pCMB).

Given isoelectric point (pI) values are approximate.

Lanes 1 and 2, 8 and 9, 11 and 12: *Triticum durum* Desf. cultivar (cv.) Ege-88. Lanes 1 and 2: 1 µL extract each; lanes 8 and 9: 0.1 µL and 0.03 µL; lanes 11 and 12: 2 µL each. Lanes 3, 4, 6, 7, 13, 14: *T. aestivum* L. Lanes 3 and 4: cv. Grom, 0.05 µL each; lanes 6 and 7: cv. Grom, 2.5 µL each; lanes 13 and 14: cv. Bayraktar, 2 µL each. Lanes 16 and 17: *T. durum* cv. Salyut Altaya, 1 µL each. Proteins were extracted from flour from 10 damaged and 10 undamaged grains

(Ege-88, cv. Grom, and Bayraktar samples) or from individual grains (cv. Salyut Altaya)

Рисунок 1. Выявление α-амилаз хлебных клопов рода *Eurygaster* Lap. в поврежденных ими зернах пшеницы.

Белки разделены методом ИЭФ в геле PhastGel с интервалом pH 4–6.5. Амилазы выявлены с помощью агарозной реплики, содержащей крахмал. d и u – экстракты из поврежденных и неповрежденных зерен соответственно, SG – слюнные железы *E. integriceps* Put., p – экстракты с добавлением пара-хлормеркурибензоата Na (ПХМБ).

Величины изоточек (pI) указаны ориентировочно.

Дорожки 1 и 2, 8 и 9, 11 и 12 – *Triticum durum* Desf., сорт Ege-88, 1 и 2 по 1 мкл экстракта, 8 и 9 – 0.1 и 0.03 мкл, 11 и 12 – по 2 мкл. 3, 4, 6, 7, 13, 14, 16 и 17 – *T. aestivum* L., 3, 4, 6 и 7 сорт Гром, 3 и 4 – по 0.05 мкл, 6 и 7 – по 2.5 мкл; 13 и 14 – сорт Bayraktar – по 2 мкл; 16 и 17 – сорт Салют Алтая – по 1 мкл.

Белки экстрагировали из муки из 10 поврежденных и 10 неповрежденных зерновок (сорта Ege-88, Гром, и Bayraktar) или из отдельных зерновок (Салют Алтая)

Excess grain β -amylases obviously prevent the acquisition of clear IEF spectra of bug α -amylases. The addition of a pCMB solution to proteins extracted from bug-damaged grains taken from various wheat samples including the cv. Grom (lane 6dp), Ege-88 (11dp), and Bayraktar (13dp) resulted in the appearance of distinct components with amylase activity that corresponded to the pI of the *E. integriceps* salivary gland α -amylases. Conversely, no amylase-active components were detected in preparations from intact pCMB-treated grains (lanes 7up, 12up, 14up and 16up).

Apparently, the effect of “cleaning” the spectra of α -amylases of insects was due to the inactivation of β -amylases of grain under the action of pCMB. Components of α -amylases corresponding or close in pI to the components of Sunn pest salivary gland α -amylases were found in some bug-damaged grains of samples from Krasnodar Krai (cv. Grom), Saratov Oblast (cv. Dzhangal), Altai Krai (cv. Altai 70, Altai 75, Salyut Altaya and Tobolskaya Stepnaya), as well as from Turkey (cv. Ege-88 and Bayraktar). Undamaged grains did not contain such amylase components.

Discussion

The study results showed that wheat grains damaged by wheat bugs in various regions of Russia (Krasnodar Krai, Saratov Oblast, Altai Krai) and in Turkey can contain active α -amylases with isozyme patterns similar to the α -amylases from the salivary glands of *E. integriceps* originating from Krasnodar Krai. It should be noted that in the European part of Russia, wheat is damaged mainly by *E. integriceps*, in the Altai Krai – by *E. maura* L. (Neymorovets, 2019; Kapustkina, 2024), while in Turkey it is believed that both of the mentioned species are harmful (Konarev et al., 2013; Mutlu et al., 2014), as well as *E. austriaca* Schrk. (Kınacı, Kınacı, 2004). Since the species of bugs that damaged the grain samples from Turkey analyzed in this work, unlike the samples from Russia, were not clearly identified, we limited ourselves to designating only their belonging to the genus *Eurygaster*. Researchers from Turkey often refer to these wheat bug species under the common name Sunn pests (Kınacı, Kınacı, 2004). This approach to species designation is supported by the results of our studies on the proteases of wheat grain damaged by wheat bugs. These results indicate some differences in the component composition of these enzymes between samples of Russian and Turkish origin, which may reflect both intra- and interspecific differences in the pests (Konarev et al. 2013, Konarev, Kapustkina, 2024).

As in the case of proteases (Konarev et al. 2013), even within a single sample, not all grains with distinct signs of severe damage by wheat bugs contained detectable amounts of salivary gland α -amylases. In a number of samples, α -amylases were absent in all damaged grains analyzed. It can be assumed that the level of activity of salivary gland hydrolytic enzymes remaining in the damaged grain may depend on the developmental stage of the grain at the time of damage, grain maturation conditions, the completeness of the insect's ingestion of the liquefied endosperm contents, and cultivar-specific features of the mechanisms for neutralizing the action of foreign enzymes in the grain. The seeds of various plants, including cereals, are known to contain protein inhibitors of insect α -amylases (Franco et al., 2002; Basso et al., 2025). It is possible that the absence of traces of α -amylases from the

It is noteworthy that not all damaged grains from the listed samples yielded discernible α -amylase spectra. When analyzing by 10 damaged grains of the listed above samples, bug amylases were detected in one or more of grains or in a sample of flour from 10 grains. Furthermore, in a number of samples, all analyzed grains exhibiting clear signs of severe bug damage contained no α -amylases in quantities sufficient for detection under the experimental conditions employed. This applies to the samples of cv. Bezostaya 100, Svarog, Elanchik (Krasnodar Krai), Oasis, Pamyati Yanchenko, Yunlon (Altai Krai), and the sample of the cv. İkizce from Turkey.

Comparison of the efficiency of different pCMB doses showed that the optimal pCMB concentration in the sample is 2 mM. Lower concentrations do not ensure complete inhibition of grain β -amylases, while concentrations above 6 mM may adversely affect the activity of insect α -amylases.

The alternative version of the method for detecting bug α -amylases, which involves treating the starch replica itself with a pCMB solution, showed somewhat lower effectiveness in inactivating β -amylases.

salivary glands of bugs in damaged grains of some samples may be somehow related to such inhibitors. α -amylase inhibitors from plant seeds are represented by a variety of forms, differing in their specificity to the α -amylases of various insect species (Konarev, 1996, 1999; Konarev and Lovegrove, 2012). Some inhibitors from the endosperm of common wheat *T. aestivum* inhibit the activity of intestinal α -amylases of the Sunn pest, but the sensitivity of these enzymes to these inhibitors is hundreds of times lower than the sensitivity of the α -amylase of the beetle *Tenebrio molitor* L. The α -amylases of the salivary glands of the bug did not show any sensitivity to them (Konarev, 1992, 1996). It was suggested that low sensitivity to wheat inhibitors or its absence is a result of the coevolution of species of the genus *Eurygaster* with the host plant (Konarev, 1996). *E. integriceps* is a highly specialized pest of wheat, and *T. molitor* is omnivorous. In turn, Mehrabadi et al. (2010, 2012) found that a protein inhibitor from the grain of a wheat-rye hybrid, *Triticale* (TAI), inhibits the activity of both intestinal α -amylases and salivary glands. Interestingly, rye is a much less preferred plant by *Eurygaster* bugs than wheat (Amiri et al., 2010), which may be partly due to its inhibitors. It has been shown that the salivary glands of the *Eurygaster* bug most intensively synthesize digestive enzymes, in particular proteases, which are capable of hydrolyzing the most readily available food component (Konarev et al., 2011), and this synthesis is highly dependent on the host plant (Amiri et al., 2016). These data suggest that the absence of bug α -amylases in some samples of damaged grain may be due to their reduced synthesis by the salivary glands in response to the presence of certain factors in the grain that impede starch digestion, such as inhibitors that make such synthesis energetically unjustifiable. At the same time, bug proteases may be present in such samples of damaged grain. In different samples with the same level of damage according to visual assessment, the component composition and activity of bug proteases may differ significantly (Konarev et al., 2013).

It was found that the α -amylases of wheat bugs retain activity in damaged grains for many years – they were detected in samples from harvests 10–20 years old (e.g.,

samples of the cv. Grom and Ege-88). Bug proteases also remain active in damaged grains for equally long periods (Konarev et al., 2020). Other examples of the preservation of insect α -amylase activity in cereal grains and various biological materials of plant origin, including food products, are also known. Traces of active α -amylases from the granary weevil *Sitophilus granarius* (L.) were detected in barley grains fed on by adults of this pest (Piasecka-Kwiatkowska et al., 2014). α -Amylases are a component

of the salivary gland secretion of *S. granarius* (Baker et al., 1984). Bee α -amylase was isolated from honey (Babacan and Rand, 2007). The long-term preservation of activity of non-ingested residues of insect α -amylases in cereal grains is possibly associated with the formation of their complexes with water-insoluble proteins and endosperm starch granules, followed by drying. This may provide stabilization of the enzyme molecules. The formation of such complexes has been demonstrated for endogenous α -amylases (Yu et al., 2018).

Conclusion

Using a novel method that enables the selective inactivation of interfering endogenous β -amylases, α -amylases similar to those found in the salivary glands of the *Eurygaster integriceps* bug (Sunn pest) were identified in wheat grains damaged by bugs of the genus *Eurygaster*. This finding demonstrates that not only proteases but also the α -amylases of these pests can persist for extended periods within damaged grain. The activity of these enzymes theoretically may manifest during the use of flour produced from damaged grain in dough preparation or other food technologies, potentially impacting the quality of the final product what requires more detailed

study in the future. Some interpretations of results we obtained are still hypothetical in nature and also deserve separate experimental confirmation or refutation. The proposed approach for detecting bug α -amylases in insect-damaged cereal grains can be recommended for technological assessment of damaged grain, studying plant immunity mechanisms against pests, and diagnosing insect damage to grain. Refinement of the method, including its alternative version, will enhance its sensitivity, resolution and effectiveness thereby expanding opportunities for further research into insect-plant interactions.

References

- Amiri A, Bandani AR, Alizadeh H (2016) Molecular identification of cysteine and trypsin protease, effect of different hosts on protease expression, and RNAi mediated silencing of cysteine protease gene in the sunn pest. *Arch Insect Biochem Physiol* 91(4):189–209. <https://doi.org/10.1002/arch.21311>
- Amiri A, Bandani AR, Jamshidi B (2010) Effect of host plants on Sunn Pest (*Eurygaster integriceps*) body weight, lipid and protein content. *Mun Ent Zool* 5:1088–1095.
- Babacan S, Rand AG (2007) Characterization of honey amylase. *J Food Sci* 72(1):C050–C055. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00215.x>
- Baker JE, Woo SM, Byrd RV (1984) Ultrastructural features of the gut of *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) with notes on distribution of proteinases and amylases in crop and midgut. *Can J Zool* 62(7):1251–1259. <https://doi.org/10.1139/z84-181>
- Basso MF, Valencia-Jiménez A, Celso FL, Gerhardt IR, Higgins TJV, Grossi-de-Sa MF (2025) Exploring plant α -amylase inhibitors: mechanisms and potential application for insect pest control. *Biotechnol J* 20(8):e70098. <https://doi.org/10.1002/biot.70098>
- Cornaggia C, Ivory R, Mangan D, McCleary BV (2016) Novel assay procedures for the measurement of α -amylase in weather-damaged wheat. *J Sci Food Agric* 96(2):404–412. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7103>
- Da Lage J-L (2018) The amylases of insects. *Int J Insect Sci* 10:1–14. <https://doi.org/10.1177/1179543318804783>
- Dizlek H (2018) A biochemical factor that significantly disrupt the wheat quality: insect enzyme salivary. Proc. 2nd International Congress on Advances in Bioscience and Biotechnology (ICABB), June 26–30, 2018 Podgorica, Montenegro. 33–35
- Dizlek H, Özer MS (2016) Effects of sunn pest (*Eurygaster integriceps*) damage ratio on physical, chemical, and technological characteristics of wheat. *Qual Assur Saf Crops Foods* 8(1):145–156. <https://dx.doi.org/10.5073/JABFQ.2015.088.003>
- Dizlek H, Özer MS (2024) A study to clarify whether sunn pest (*Eurygaster integriceps*) increases amylase activity in wheat. *Heliyon* 10(10):e30870. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30870>
- Doehlert DC, Duke SH (1983) Specific determination of α -amylase activity in crude plant extracts containing β -amylase. *Plant Physiol* 71(2):229–234. <https://doi.org/10.1104/pp.71.2.229>
- Evans E, van Wegen B, Ma Y, Eglinton J (2003) The impact of the thermostability of α -amylase, β -amylase, and limit dextrinase on potential wort fermentability. *J Am Soc Brew Chem* 61(4):210–218. <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-61-0210>
- Every D, Farrell JA, Stufkens MW (1990) Wheat-bug damage in New Zealand wheats: the feeding mechanism of *Nysius huttoni* and its effect on the morphological and physiological development of wheat. *J Sci Food Agric* 50(3):297–309. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740500303>
- Franco OL, Rigden DJ, Melo FR., Grossi-de-Sá MF (2002) Plant α -amylase inhibitors and their interaction with insect α -amylases: Structure, function and potential for crop protection. *Eur J Biochem* 269(2):397–412. <https://doi.org/10.1046/j.0014-2956.2001.02656.x>
- Ghanbari S, Farshbaf Pourabad R, Ashouri S (2022) Influence of wheat cultivars on digestive enzyme activity and protein content of the Sunn pest, *Eurygaster integriceps* (Hem.: Scutelleridae). *J Crop Prot* 11(1):107–119. <https://doi.org/10.48311/jcp.2022.1582>
- Kamenchenko SE, Lebedev VB, Naumova TV (2010) Harmfulness of corn bug (*Eurygaster Integriceps*) and grain quality. *Agrarnyj Vestnik Yugo-Vostoka* (1):36–37 (In Russian)
- Kapustkina AV (2024) Harmfulness of the tortoise bug *Eurygaster maura* (L.) (Heteroptera, Scutelleridae) in Altai

- territory. *Entomol Rev* 104:23–29. <https://doi.org/10.1134/S0013873824010032>
- Kapustkina AV, Frolov AN (2022) Wheat grain damage by *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera, Scutelleridae): diagnostics and detection methods. *Entomol Rev* 102:50–62. <https://doi.org/10.1134/S0013873822010043>
- Kınacı E, Kınacı G (2004) Quality and yield losses due to sunn pest (Hemiptera: Scutelleridae) in different wheat types in Turkey. *Field Crops Res* 89(2–3), 187–195. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2004.02.008>
- Konarev A, Dolgikh V, Senderskiy I, Konarev A, Kapustkina A, Lovegrove A (2019) Characterisation of proteolytic enzymes of *Eurygaster integriceps* Put.(Sunn bug), a major pest of cereals. *J Asia-Pac Entomol* 22(1):379–385. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.02.001>
- Konarev AV, Beaudoin F, Marsh J, Vilkova NA, Nefedova LI, Sivri D, Köksel H, Shewry PR, Lovegrove A (2011) Characterization of a glutenin-specific serine proteinase of Sunn bug *Eurygaster integriceps* Put. *J Agric Food Chem* 59(6):2462–2470. <https://doi.org/10.1021/jf103867g>
- Konarev AIV (1982) [The nature of α -amylase inhibitors in connection with the problems of evolution and immunity of wheat and other cereals] *PhD Thesis*. Leningrad. 170 p. (In Russian)
- Konarev AIV, Dolgikh VV, Senderskiy IV, Konarev AV, Kapustkina AV, Nefedova LI, Gubareva NK (2017) [Immunochemical analysis of Sunn pest *Eurygaster integriceps* proteinase complex hydrolyzing wheat gluten proteins.] *Vestnik zashchity rasteniy* 1(91):12–20 (In Russian)
- Konarev AIV, Konarev AV, Nefedova LI, Gubareva NK, Ozay DS (2013) Analysis of gluten-hydrolyzing proteinase polymorphism in wheat grains damaged by Sunn Pest *Eurygaster integriceps* Put. and related bugs. *Russ Agric Sci* 39(5–6):390–395. <https://doi.org/10.3103/S1068367413060104>
- Konarev AV (1996) Interaction of insect digestive enzymes with plant protein inhibitors and host-parasite coevolution. *Euphytica* 92:89–94. <https://doi.org/10.1007/BF00022833>
- Konarev AV (2020) [Digestive hydrolases of wheat bugs: properties, significance and possible ways to limit their activity] *Vestnik Zashchity Rasteniy* 103(2):65–86 (In Russian) <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2020-103-2-13279>
- Konarev AV, Kapustkina AV (2024) [Analysis of the diversity of wheat bugs of the genus *Eurygaster* Lap. by IEF spectra of gluten-hydrolyzing proteases from damaged wheat grains] *Proc. V Congr. Plant Protection* 76 (In Russian) <https://vizrcongress2024.ru/assets/file/sbornik-tezisov-v-vk-po-zashchite-rastenij.pdf#page=76>
- Konarev AV, Lovegrove A (2012) Novel detection methods used in conjunction with affinity chromatography for the identification and purification of hydrolytic enzymes or enzyme inhibitors from insects and plants. In: Magdeldin S (ed) *Affinity Chromatography*. Rijeka: InTech. 188–210. <https://doi.org/10.5772/37618>
- Konarev AV, Tomooka N, Ishimoto M, Vaughan A (1999) Variability of the inhibitors of serine, cysteine proteinases and insect α -amylases in *Vigna* and *Phaseolus*. In: Mugnozza, G.T.S., Porceddu, E., Pagnotta, M.A. (eds) *Genetics and Breeding for Crop Quality and Resistance*. Developments in Plant Breeding, vol 8. Dordrecht: Springer Netherlands, pp. 173–181. https://doi.org/10.1007/978-94-011-4475-9_20
- Lorenz K, Meredith Every P (1988) Insect-damaged wheat – effects on starch characteristics. *Starch – Stärke* 40(4):136–139. <https://doi.org/10.1002/star.19880400404>
- Mehrabadi M, Bandani AR, Dastranj M (2014) Salivary digestive enzymes of the wheat bug, *Eurygaster integriceps* (Insecta: Hemiptera: Scutelleridae). *C R Biol* 337(6):373–382. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2014.04.003>
- Mehrabadi M, Bandani AR, Saadati F, Ravan, S. (2009). Sunn pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae), digestive α -amylase, α -glucosidase and β -glucosidase. *J Asia-Pac Entomol* 12(2): 79–83. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2009.01.003>
- Mehrabadi M, Bandani AR, Mehrabadi R, Alizadeh H (2012) Inhibitory activity of proteinaceous α -amylase inhibitors from *Triticale* seeds against *Eurygaster integriceps* salivary α -amylases: Interaction of the inhibitors and the insect digestive enzymes. *Pestic Biochem Physiol* 102(3):220–228. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.01.008>
- Mehrabadi M, Bandani AR, Saadati F (2010) Inhibition of Sunn pest, *Eurygaster integriceps*, α -amylases by α -amylase inhibitors (T- α AI) from *Triticale*. *J Insect Sci* 10(1):179. <https://doi.org/10.1673/031.010.14139>
- Mutlu Ç, Canhilal R, Karaca V, Duman M, Gözüaçık C, Kan M (2014) Economic threshold revision of the sunn pest (*Eurygaster integriceps* put.) (Hemiptera: Scutelleridae) on wheat in southeastern Anatolia region. *Türk Entomol Bült* 4(3):157–169. <http://dx.doi.org/10.16969/teb.80534>
- Neimorovets VV (2019) Distribution of the Sunn pests from the genus *Eurygaster* (Heteroptera: Scutelleridae) in Russia. *Vestnik Zashchity Rasteniy* 4(102):36–48 (In Russian) <http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-4-102-36-48>
- Netsvetaev VP, Akinshina OV, Bondarenko LS (2014) Use of the common winter wheat homozygous population for genetic analysis of beta-amylase and evaluation of its aggregation ability. *Russ J Genet* 50(11):1156–1160. <http://doi.org/10.1134/S1022795414110106>
- Ouaarous M, El Fakhouri K, Taarji N, Baouchi A, Amri M., Ramdani C., Sobeh M, Mesfioui A, El Bouhssini M (2025) Impact of field insect pests on seed and nutritional quality of some important crops: a comprehensive review. *ACS Omega* 10(9):8779–8792. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c08982>
- Pavlyushin VA, Vilkova NA, Sukhoruchenko GI, Nefedova LI, Kapustkina AV (2015) [Sunn pest and other wheat bugs]. St. Petersburg: VIZR. 280 p. (In Russian)
- Piasecka-Kwiatkowska D, Nawrot J, Zielińska-Dawidziak M, Gawlak M, Michalak M (2014). Detection of grain infestation caused by the granary weevil (*Sitophilus granarius* L.) using zymography for α -amylase activity. *J Stored Prod Res* 56:43–48. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2013.10.005>
- Ravan S, Mehrabadi M, Bandani A (2009) Biochemical characterization of digestive amylase of wheat bug, *Eurygaster maura* (Hemiptera: Scutelleridae). *Afr J Biotechnol* 8(15):3640–3648. <https://doi.org/10.5897/AJB2009.000-9363>
- Rocha AA, Pinto CJ, Samuels RI, Alexandre D, Silva CP (2014). Digestion in adult females of the leaf-footed bug *Leptoglossus zonatus* (Hemiptera: Coreidae) with emphasis on the glycoside hydrolases α -amylase, α -galactosidase,

- and α -glucosidase. *Arch Insect Biochem Physiol* 85(3):152–163. <https://doi.org/10.1002/arch.21149>
- Rosell CM, Aja S, Sadowska J (2002) Amylase activities in insect (*Aelia* and *Eurygaster*)-damaged wheat. *J Sci Food Agric* 82:977–982. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1138>
- Salis L, Goula Goula M, Valero Baya J, Gordún Quiles E (2010) Prolamin proteins alteration in durum wheat by species of the genus *Eurygaster* and *Aelia* (Insecta, Hemiptera). *Span J Agric Res* 8(1):82–90. <http://hdl.handle.net/2117/8639>
- Silva CP, Terra WR (1994). Digestive and absorptive sites along the midgut of the cotton seed sucker bug *Dysdercus peruvianus* (Hemiptera: Pyrrhocoridae). *Insect Biochem Mol Biol* 24(5), 493–505. [https://doi.org/10.1016/0965-1748\(94\)90044-2](https://doi.org/10.1016/0965-1748(94)90044-2)
- Sivri D, Batey IL, Skylas DJ, Daqiq L, Wrigley CW (2004) Changes in the composition and size distribution of endosperm proteins from bug-damaged wheats. *Aust J Agric Res* (4):477–483. <https://doi.org/10.1071/AR03185>
- Thompson DM, Powell W, Forster BP (1990) Use of isoelectric focusing in barley varietal identification. *Ann Appl Biol* 117(3):625–631. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1990.tb04828.x>
- Vilkova NA (1980) *Fiziologicheskie osnovy teorii ustoychivosti rasteniy k nasekomym* [Physiological basis of the theory of plant resistance to insects] *Abstr. Dr. Agr.Sci. Thesis*. Leningrad. 49 p. (In Russian)
- Wang B, Huang D, Cao C, Gong Y (2023) Insect α -amylases and their application in pest management. *Molecules* 28:7888. <https://doi.org/10.3390/molecules28237888>
- Woodring J, Hoffmann KH, & Lorenz MW (2007) Feeding, nutrient flow, and digestive enzyme release in the giant milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus*. *Physiol Entomol* 32(4):328–335. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2007.00582.x>
- Yu W, Zou W, Dhital S, Wu P, Gidley MJ, Fox GP, Gilbert RG (2018) The adsorption of α -amylase on barley proteins affects the in vitro digestion of starch in barley flour. *Food Chem* 241:493–501. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.021>
- Ziegler P (1999) Cereal beta-amylases. *J Cereal Sci* 29(3):195–204. <https://doi.org/10.1006/jcrs.1998.0238>

Вестник защиты растений, 2025, 108(3), с. 157–163

OECD+WoS: 1.06+IY (Entomology), 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2025-108-3-17155>

Полнотекстовая статья

АЛЬФА-АМИЛАЗЫ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ ХЛЕБНЫХ КЛОПОВ РОДА *EURYGASTER* СОХРАНЯЮТ АКТИВНОСТЬ В ПОВРЕЖДЕННЫХ ЗЕРНАХ ПШЕНИЦЫ

Ал.В. Конарев^{*1,2}, А.В. Капусткина¹¹Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург²Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург

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

Вредная черепашка *Eurygaster integriceps* Put. и другие виды клопов-черепашек наносят большой ущерб урожаю пшеницы за счет введения в зерно гидролитических ферментов, разжижающих эндосперм в процессе внекишечного пищеварения. Основным фактором вредоносности хлебных клопов являются протеазы, которые, сохраняясь в поврежденном зерне и муке из него, расщепляют белки клейковины при замесе теста, что приводит к резкому ухудшению качества хлеба. Протеазы слюнных желез обеспечивают белковое питание клопов, однако, основным источником энергии, позволяющим им накапливать необходимый для зимовки жир, является крахмал эндосперма, который гидролизуют альфа-амилазы. Несмотря на важную роль альфа-амилаз слюнных желез, их участие в процессе питания клопов-черепашек, присутствие в поврежденном зерне и воздействие на технологические качества муки остаются недостаточно изученными, что может быть отчасти связано с отсутствием методов выявления в зерне собственно альфа-амилаз клопов. Использование нового простого метода, включающего инактивацию эндогенных бета-амилаз п-хлормеркурибензоатом натрия, позволило при проведении изофокусировании белков некоторых образцов поврежденного зерна получить спектры альфа-амилаз, сходные со спектрами альфа-амилаз слюнных желез хлебных клопов. Разработанный подход может быть рекомендован для использования при технологической оценке поврежденного зерна, при изучении механизмов иммунитета растений к вредителям, а также для диагностики повреждения зерна насекомыми.

Ключевые слова: вредная черепашка, пищеварительные ферменты, качество зерна, изоэлектрическая фокусировка, диагностика повреждения

Поступила в редакцию: 14.07.2025

Принята к печати: 20.10.2025

ENDOPHYTIC FUNGUS *BEAUVERIA BASSIANA* INDUCES ANTIOXIDANT ENZYME ACTIVITIES AND ENHANCES THE GROWTH OF *RHIZOCTONIA SOLANI*-INFECTED POTATO PLANTS

O.G. Tomilova^{1,2*}, H.P. Tolokonnikova¹, M.V. Tyurin¹, N.A. Kryukova¹

¹Institute of Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

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

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

The physiological and biochemical changes in potato plants colonized by the endophytic form of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) were analyzed under biotic stress caused by infection with the phytopathogen *Rhizoctonia solani* (Basidiomycetes: Ceratobasidiales). A high level of plant colonization by entomopathogenic endophyte was observed, and infection with *R. solani* did not have a significant effect on the degree of plant colonization. The colonization of potatoes by *B. bassiana* compensated for the growth retardation of *Rhizoctonia*-infected plants, especially the roots, and significantly reduced *Rhizoctonia* damage to stems and developing stolons. Inoculation of plants with both fungi resulted in an increase in antioxidant activity, with *B. bassiana* contributing to this effect. There were significant increases in the activity of the following antioxidant enzymes: peroxidases, superoxide dismutases, polyphenol oxidases and phenylalanine-ammonia-lyase. *B. bassiana* triggered the host plant's defense system, namely a complex of antioxidant enzymes, to overcome biotic stress caused by *R. solani*. Therefore, *B. bassiana* is a promising modulator of plant defense metabolism against phytopathogens.

Keywords: entomopathogenic fungus, fungal phytopathogen, oxidative stress, antioxidant enzymes, induced resistance, plant protection

Submitted: 18.07.2025

Accepted: 10.09.2025

Introduction

Entomopathogenic fungi of the genus *Beauveria* are cosmopolitan and widespread throughout the world. They traditionally attract attention due to their ability to cause mycoses in arthropods from various taxonomic groups (Zimmerman, 2007). Many commercial mycoinsecticides have been developed using *Beauveria bassiana* s.l. to control different types of arthropods in agriculture, forestry and veterinary settings (Mascarin, Jaronski, 2016). In addition to their insecticidal properties, researchers are interested in the endophytic ability of fungi of this genus, i.e. their ability to colonize plant tissues asymptotically. Unlike other endophytic entomopathogenic fungi, which are mainly associated with the rhizosphere and roots, *Beauveria* can colonize plants systemically and is often isolated from the roots, stems, and leaves (Behie et al., 2015). A lot of experimental data demonstrates the ability of *Beauveria* spp. to endophytically colonize more than a hundred plant species from various families (Poaceae, Fabaceae, Solanaceae, Brassicaceae, Cucurbitaceae, Rosaceae, Amaryllidaceae, etc.), including economically important ones (reviewed by McKinnon et al., 2016; Vega, 2018; Bamisile et al., 2018), one of which is the potato (Tomilova et al., 2021; Tyurin et al., 2021). It has been noted that plants associated with *Beauveria* grow more actively and tolerate abiotic and biotic stresses more easily. Artificial inoculation with *B. bassiana* has a positive effect on the growth of various crops, including cotton (Lopez, Sword, 2015), beans (Jaber, Enkerli, 2016), corn (Tall, Meyling, 2018; Liu et al., 2022), garlic (Espinoza et al., 2019),

cucumber (Shalan et al., 2021), grapevine (Mantzoukas et al., 2021) and wheat (Gonzalez-Guzman et al., 2021). The growth-stimulating effect of the endophyte *B. bassiana* has also been observed in plants of the Solanaceae family. It has been found that inoculation with *B. bassiana* increases the growth of hot and sweet peppers (Saragih et al., 2019; Tomilova et al., 2022; Wilberts et al., 2023), tomatoes (Wei et al., 2020; Sui et al., 2023), and potatoes (Tomilova et al., 2023).

Increased drought tolerance as a result of endophytic colonization by *B. bassiana* has been demonstrated on cabbage (Dara et al., 2017), corn (Kuzhuppillymyal-Prabhakaranakutty et al., 2020), onions (Gana et al., 2022), as well as seedlings of oak (Ferus et al., 2019) and tomato (Guo et al., 2024). The mitigation of the negative effects of salt stress during endophytic colonization by *B. bassiana* was established in rice plants (Aker et al., 2023). Previously, we studied the effects of *B. bassiana* (strain Sar-31) inoculation on potato growth and physiological parameters under conditions of chloride-associated salinity. Our results showed that the fungal association reduced the effects of salt stress on potato tissues by increasing the activity of antioxidant enzymes and promoting the accumulation of free proline (Tomilova et al., 2023).

Plants colonized by the endophytic fungus *B. bassiana* cope better with biotic stresses. It has been reported that the endophytic relationship between plants and *B. bassiana* has an adverse effect on crop pests, both directly and indirectly (reviewed by Vidal, Jaber, 2015; and Mantzoukas, Eliopoulos,

2020). For instance, Pourtaghi et al. (2020) observed a significant increase in mortality among the nymphs and adults of the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* which developed on tomato plants, containing *B. bassiana* as an endophyte. Conversely, tomato leaves which were not inoculated with *B. bassiana* were preferred by the whitefly *Bemisia tabaci* compared to the inoculated ones (Wei et al., 2020). Probably, this was due to the ability of *B. bassiana* to modulate the production of secondary metabolites (e.g., alkaloids and flavonoids) in tomatoes, which suppress the survival and fertility of *B. tabaci*, as was demonstrated by Wang et al. in their 2023 study. Moreover, feeding on leaves colonized by *B. bassiana* has a negative effect on the growth, development, and survival of *Helicoverpa armigera* (Toffa et al., 2021), *Tuta absoluta* (Allegrucci et al., 2017; Silva et al., 2020; Geremew et al., 2024), and *Phthorimaea operculella* (Zhang et al., 2023).

A number of studies demonstrate the ability of various species of endophytic entomopathogenic fungi to suppress the development of phytopathogens and reduce the severity of plant diseases (reviewed by Bamisile et al., 2018; Jaber, Ownley, 2018; Vega, 2018). In particular, it has been demonstrated that the colonization of plants by *Beauveria* fungi inhibits the development of necrotrophic pathogens, including *Pythium myriotylum* and *Rhizoctonia solani* (Ownley et al. 2008), *Fusarium* spp. (Jaber, Alananbeh, 2018), *Verticillium dahliae* (Miranda-Fuentes et al., 2020), *Sclerotinia sclerotiorum* (Raad et al., 2019), *Botrytis cinerea* (Barra-Bucarei et al., 2020; Gupta et al., 2022; Sui et al., 2023; Proietti et al., 2023). Our previous studies showed that treating potato planting material with *B. bassiana* reduces its infection by *R. solani* (Tomilova et al., 2020). It also protects feed beans against root rot and leaf

spot caused by a complex of phytopathogenic species from the genera *Fusarium* and *Alternaria* (Ashmarina et al., 2021).

Moreover, inoculation of plants with *B. bassiana* reduces damage caused by hemibiotrophic and biotrophic pathogens, including *Plasmopara viticola* (Jaber, 2015), *Phytophthora infestans* (Maksimov et al., 2015), *Oidium neolycopersici* and *Leveillula taurica* (Gupta et al., 2022), *Podosphaera xanthii* (Iida et al., 2023), *Zucchini yellow mosaic virus* (Jaber, Salem, 2014), and *Cucumber mosaic virus* (Shaalán et al., 2022).

Researchers associate the decreased disease rate in plants colonized by endophytes with direct effects, such as competition, antibiosis, and mycoparasitism, as well as indirect effects, such as the induction of plant immune responses. Nevertheless, most of the mechanisms associated with the resistance of plants colonized by endophytic fungi to phytopathogens are not well understood. Since both endophytes and phytopathogens can be fungal, many questions arise about how plants recognize them and how plants develop resistance to phytopathogens.

Previously, we carried out a series of laboratory and field experiments to study the interactions between the endophytic fungus *B. bassiana* and potato plants. This study continued the investigation of this experimental model, focusing on how potatoes respond to colonization by fungal endophytes and/or phytopathogens. We selected *R. solani*, the pathogen that causes black scab in potatoes, as the phytopathogen, since this disease is widespread and dangerous in regions where potatoes are grown (Shaldyayeva, 1990; Tomilova et al., 2020). The aim of this work was to evaluate the impact of the endophytic fungus *B. bassiana* on the growth, oxidative stress, and antioxidant activity of enzymes in potato plants infected with the black scurf pathogen *R. solani*.

Materials and Methods

The experiment used “Red Scarlet” potato tubers (elite reproduction) obtained from “Priobskoe” ZAO in the Novosibirsk region. Before sowing, the potato tubers were washed and dried, the healthy ones (without mechanical damage or signs of disease) were selected and sorted by size (diameter $\approx$ 3 cm). After the sprouts appeared (3–5 mm), the tubers were planted one by one in an isolated 1-litre pot and considered as an independent replication (20 plants per variant). Potato plants were grown at a temperature of 20–22 °C with a long photoperiod (LD 16:8), in the universal unsterilized soil substrate “Terra Vita”. The soil substrate was preliminarily analyzed for the absence of conidia of entomopathogenic fungi and *R. solani* propagules by sowing an aqueous suspension on artificial nutrient media with the addition of a mixture of antibiotics (Tomilova et al., 2020). Watering was carried out twice a week using settled tap water. The experiment included 4 variants: 1) control – without soil inoculation with fungi; 2) soil inoculation with a suspension of *B. bassiana* conidia; 3) soil inoculation with *R. solani* sclerotia; 4) combined soil inoculation with *B. bassiana* and *R. solani*. The duration of the experiment was 30 days post inoculation with fungi (dpi). The experiment was conducted twice.

A strain of the entomopathogenic fungus *B. bassiana* (Sar-31) from the collection of microorganisms at the Institute of Systematics and Ecology of Animals (the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences) was used for inoculation of plants. The species was identified on the basis of a partial

sequence of translation elongation factor (EF-1 α), GenBank accession number MZ564259. This strain has high insecticidal activity (Kryukov et al., 2017), is capable of actively colonizing potatoes (Tomilova et al., 2023), and also shows antagonistic properties towards several phytopathogens (Ashmarina et al., 2021). The fungal culture was incubated at 26 °C for 10 days in the dark on Sabouraud dextrose agar with the addition of 0.25 % yeast extract. A Tween 80 (0.03 %) aqueous solution was used to prepare the conidial suspension, and the concentration of conidia was counted using a haemocytometer. The plants were inoculated by applying the conidial suspension to the root growth area, three days after planting (titration of 5×10^7 spores/ml, volume – 10 ml/plant).

The phytopathogen used for infection was strain *R. solani* AG-3 (anastomotic group 3), originally isolated from potato tubers infected with sclerotia (the strain was kindly provided for research by professor E.M. Shaldyayeva from the collection of microorganisms of the Department of Plant Protection of Novosibirsk State Agrarian University). An artificial infectious background was created using an original method (Shaldyayeva, 1990) with a background density three times higher than the biological threshold of harmfulness. To prepare the inoculum, the *R. solani* strain was cultivated in Petri dishes for 7 days on potato dextrose agar (PDA) with the addition of streptomycin (to suppress bacterial microbiota). Then, 100 g of millet and 10 ml of water were placed in a 0.5-litre flask and autoclaved at 1 atmosphere for one hour. The

inoculation of the millet was carried out using agar discs of the *R. solani* culture (incubation – for 18 days at a temperature of 24°C). To ensure the even distribution of the fungal mass, the millet in the flasks was periodically shaken. The inoculated millet was transferred to sterile paper filter bags and dried at room temperature. The dried sclerotia of *R. solani* (2 sclerotia/container) were introduced into the root zone simultaneously with the inoculation of *B. bassiana*.

The load and method of inoculation with fungi were experimentally selected based on preliminary experiments, allowing for a high proportion of *B. bassiana* colonization of plants and the development of rhizoctonia symptoms.

At the end of the experiment, an evaluation of the growth parameters of the plants (height, fresh and dry weight of above-ground and below-ground parts) was carried out, as well as the colonization of potato plants by *B. bassiana* and *R. solani*, and the incidence of Rhizoctonia disease in stems and stolons. All indicators, except for dry weight, were recorded from each plant (20 replications per variant). The dry weight was determined after drying at 70°C to a constant weight (pooled sample from 5 plants, 4 replications per variant).

The colonization of plants by fungi was evaluated by plant explants plating onto artificial nutrient media with the addition of a mixture of antibiotics (Tomilova et al., 2020). From each plant (underground part – stem, root) 6 explants were selected. Sterilisation of plant fragments was carried out according to the method described by Posada et al. (2007). If growth of the studied fungi was recorded in one or more fragments, it was considered colonized. Identification of fungal colonies grown on plant explants was carried out based on light microscopy. Quality control of surface sterilisation was performed using the imprint method (McKinnon et al., 2016). Samples that showed fungal growth in their imprints were excluded from the analysis.

The development of Rhizoctonia disease symptoms was estimated using the widely accepted methodology based on the 5-point scale of Frank (Frank et al., 1976). The methodology is detailed in our paper (Tomilova et al., 2020).

The biochemical parameters of plants: pigment composition, the amount of malondialdehyde (MDA), as well as the activity of antioxidant enzymes in potato leaves were estimated using spectrophotometric methods (with 20 replications per variant). At the end of the experiment (30 dpi) the pigment composition

was measured spectrophotometrically in ethyl alcohol extracts using the Lichtenthaler method (1987). Optical density of a leaf ethanol extract was measured at wavelengths of 470, 664, 648, and 720 nm. The amount of MDA was estimated spectrophotometrically at a wavelength of 532 and 600 nm using a modified method by Buege and Aust (1978), with the 2-thiobarbituric acid as the substrate. Thiobarbituric acid reactive substances were quantified in 100 mg of the plant material. The assessments were carried out in two stages after 14 and 30 days.

The activity of antioxidant enzymes such as: peroxidases (POX), polyphenol oxidases (PPO), superoxide dismutases (SOD), and L-phenylalanine ammonia lyase (PAL) was estimated in potato leaves as indicators of the plant immune response. Assessments were also carried out in two stages, at 14 and 30 dpi. Samples were prepared according to the method by Wang et al. (2008). Enzyme activity was estimated spectrophotometrically. The total activity of peroxidases was measured using the method of Nicell and Wright (1997) with modifications at a wavelength of 510 nm, with the 4-aminoantipyrine as the substrate. The activity of superoxide dismutases was determined at a wavelength of 560 nm by the rate of reduction of nitro blue tetrazolium (Beauchamp, Fridovich, 1971). The activity of polyphenol oxidases was assessed at a wavelength of 490 nm according the method of Holzapfel et al. (2010) with the 4 mM L-DOPA as the substrate. The activity of L-phenylalanine ammonia-lyase was measured at a wavelength of 290 nm based on the formation of trans-cinnamic acid, using 0.02 M L-phenylalanine as the substrate (Assis et al., 2001). Enzyme activity in the incubation mixture was estimated in units of absorption density (ΔA) per minute, per 1 mg of protein in the sample. The protein concentration in plant tissues was determined by the method of Bradford (1976), for the plotting of a calibration curve used bovine serum albumin.

Data analysis was performed using Statistica 8 (Stat Soft, Inc., USA). The normality of the data distribution was checked by the Shapiro-Wilk W test. Normally distributed data of the growth and biochemical parameters were analyzed by two-way ANOVA followed by Fisher's post hoc LSD test. Student's *t*-test was used to evaluate Rhizoctonia lesions on stems and stolons. Fisher's exact test was used to assess differences in plant colonization by fungi.

Results

The colonization of plants by endophyte and phytopathogen (30 dpi) reached high values, with separate inoculation resulting in 85% for *B. bassiana* and 95% for *R. solani*. However, when the fungi were applied together, a decrease in fungal colonization was detected (1.3 times for *B. bassiana* and 2.4 times for *R. solani* compared to mono-inoculation), with the level of colonization by the phytopathogen decreasing at a statistically significant level (Fisher's exact test, $p = 0.0002$; Fig. 1).

The artificially created infection by *R. solani* over a 30-day period resulted in the development of clear symptoms of damage to the underground parts of potato plants (Fig. 2). No signs of disease were detected in the control variant or when inoculated with *B. bassiana* in its pure form. Using *R. solani* and *B. bassiana* together resulted in a significant reduction in Rhizoctonia damage to stems (Student's *t*-test, $p = 0.038$) and

developing stolons ($p = 0.016$) compared to mono-infection (Fig. 3).

When assessing potato growth parameters (30 dpi), a significant reduction in root length was observed in both variants where *R. solani* infection was present (Fisher's LSD test, $p \leq 0.030$ compared with the control and *B. bassiana* treatment only; Fig. 4A). The fresh weight of the plant roots grown in the presence of *R. solani* also decreased significantly compared to all other experimental variants ($p \leq 0.017$; Fig. 4B). Compared to the control, the *R. solani* variant and the combined fungi variant, the inoculation of *B. bassiana* resulted in a significant increase in total plant length ($p \leq 0.047$). Dry weight measurements further demonstrated the significant impact of fungal treatment on plant growth. Both total dry biomass and root dry weight in *B. bassiana*-inoculated plants

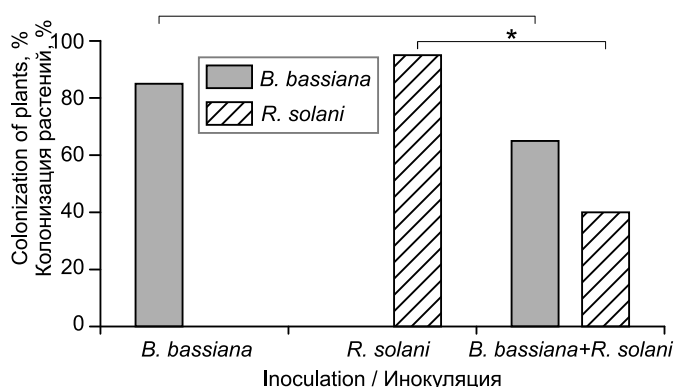


Figure 1. The proportion of plants colonized by fungi (30 dpi). Asterisks indicate significant differences in the level of colonization by one species under mono- and co-inoculation (Fisher's exact test, $p < 0.05$)

Рисунок 1. Доля колонизированных грибами растений на 30 сут после инокуляции. Звездочки указывают наличие существенных различий в уровне колонизации одним видом при моно- и совместном внесении (Точный тест Фишера, $p < 0.05$)

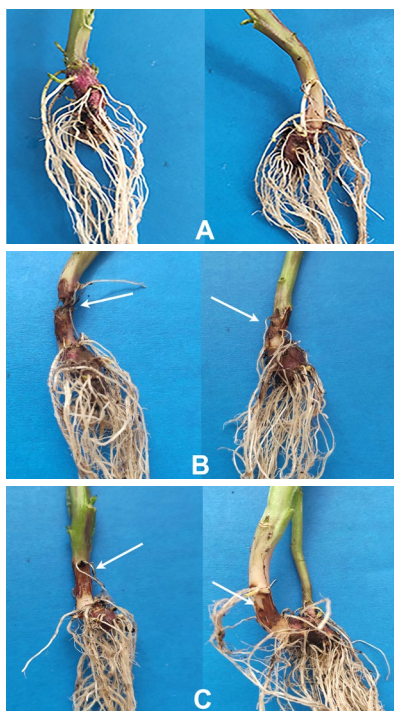


Figure 2. Development of Rhizoctonia disease symptoms on the underground part of potato shoots (30 dpi): healthy plants obtained in the Control and *Beauveria bassiana* variants (A); plants affected by 2–5 points, obtained in the *Rhizoctonia solani* variant (B); plants affected by 1–2 points, obtained in the *B. bassiana* + *R. solani* variant (C). The arrows indicate the areas of stem rhizoctonia damage

Рисунок 2. Развитие симптомов ризиктониоза на подземной части побегов картофеля на 30 сут после грибной инокуляции: здоровые растения, полученные в вариантах Контроль и *Beauveria bassiana* (A); пораженные растения на 2–5 баллов, полученные в варианте *Rhizoctonia solani* (B); пораженные растения на 1–2 балла, полученные в варианте *B. bassiana* + *R. solani* (C). Стрелки указывают на участки поражения стеблей ризиктониозом

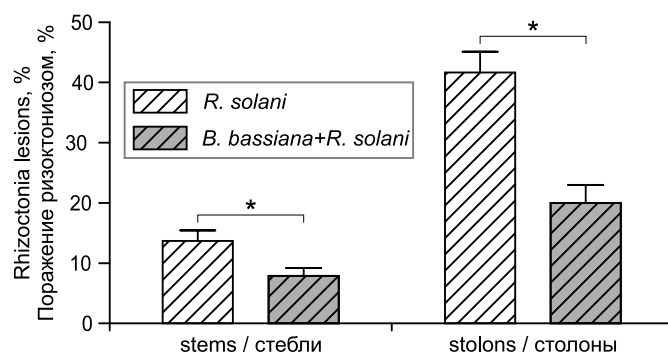


Figure 3. The effect of endophytic colonization by *Beauveria bassiana* on the level of Rhizoctonia damage to potato stems and stolons (30 dpi). The asterisks indicate significant differences between the variants; comparisons were made by organs (Student's t -test, $p < 0.05$)

Рисунок 3. Влияние эндофитной колонизации *Beauveria bassiana* на уровень поражения ризиктониозом стеблей и столонов картофеля, через 30 сут после инокуляции грибами. Звездочки указывают на существенные различия между вариантами, сравнение по органам (t -критерий Стьюдента, $p < 0.05$)

were substantially higher than in control plants ($p \leq 0.002$) and in *R. solani*-infected plants ($p < 0.001$; Fig. 4C).

A statistically significant influence of the *R. solani* factor was established for shoot length, root length, root wet weight and root dry mass (two-factor ANOVA, $F_{1,74} \geq 6.091$, $p \leq 0.016$; $F_{1,74} = 9.486$, $p = 0.003$; $F_{1,12} = 18.744$, $p = 0.001$, respectively). A significant influence of the *B. bassiana* factor was established for total plant length ($F_{1,74} = 5.738$, $p = 0.019$), root wet weight and whole plant wet weight ($F_{1,74} \geq 5.992$, $p \leq 0.017$), as well as root dry weight and total dry weight ($F_{1,12} \geq 20.643$, $p \leq 0.0007$). Thus, introducing fungi significantly affected growth parameters, particularly root growth. The development of plants was inhibited by infection with *R. solani*, while active growth of potatoes was promoted by inoculation with *B. bassiana*, largely compensating for the negative effects of *R. solani* when the fungi were applied together.

A downward trend in the total content of photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids) as well as a decrease in total chlorophyll content, was observed in potato plants infected with *R. solani* compared to the control and *B. bassiana* variants (Fisher's LSD test, $p \geq 0.080$; Fig. 5A). The chlorophyll a/b ratio decreased significantly in *R. solani*-infected plants relative to those treated solely with *B. bassiana* ($p = 0.035$). Similarly, the chlorophyll/carotenoids ratio was significantly lower than in plants treated with *B. bassiana* alone or in combination with *R. solani* ($p = 0.045$; Fig. 5B). Therefore, the *R. solani* factor was found to have a statistically significant effect on the ratio of chlorophyll a/b (two-factor ANOVA, $F_{1,74} = 7.820$, $p = 0.007$).

At the initial stage of plant colonization with *B. bassiana* (14 dpi), a significant increase in MDA level was observed compared to the other variants (Fisher's LSD test, $p \leq 0.016$). However, by the end of the experiment (30 dpi), this parameter had decreased to reach the level of the control ($p \leq 0.028$; Fig. 6). On day 30, a significant decrease in MDA level was also observed with the combined inoculation of both fungi ($p = 0.014$ compared to inoculation of *B. bassiana* alone), being marginally significant ($p = 0.052$) compared to control. Both factors had a statistically significant effect on the MDA

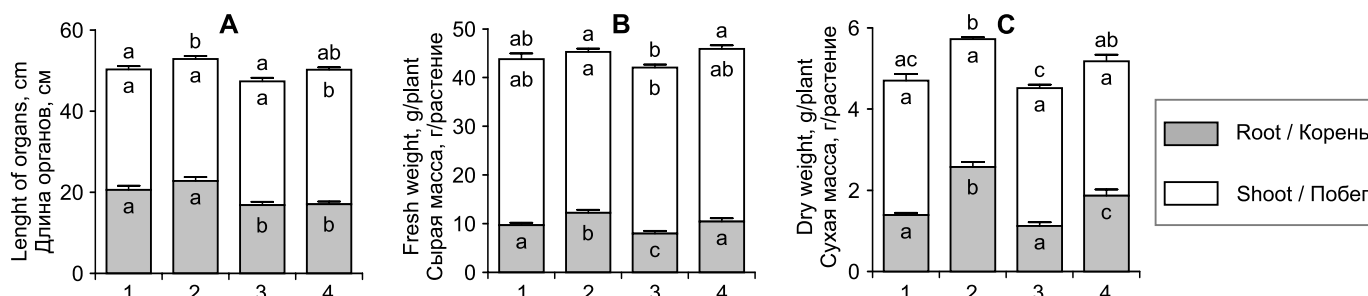


Figure 4. Effect of endophytic colonization by *Beauveria bassiana* and infection with of *Rhizoctonia solani* on the length of potato axial organs (A), wet biomass (B), and dry biomass (C) (30 dpi): 1 – Control; 2 – *B. bassiana*; 3 – *R. solani*; 4 – *B. bassiana* + *R. solani*. Different letters indicate significant differences between variants (Fisher's LSD test, $p < 0.05$).

Letters on a grey background indicate differences in roots, on a white background indicate differences in shoots and above columns indicate differences in the estimated indicators in the plant as a whole

Рисунок 4. Влияние эндофитной колонизации *Beauveria bassiana* и инфицирования *Rhizoctonia solani* на длину осевых органов (A), биомассу сырую (B) и сухую (C) картофеля (30 сут после инокуляции грибами): 1 – Контроль; 2 – *B. bassiana*; 3 – *R. solani*; 4 – *B. bassiana* + *R. solani*. Различные буквы указывают на существенные различия между вариантами (НСР Фишера, $p < 0.05$). Буквы в столбцах на сером фоне указывают на различия в оцениваемых показателях по корням, на белом фоне – по побегам, над столбцами – по растению в целом

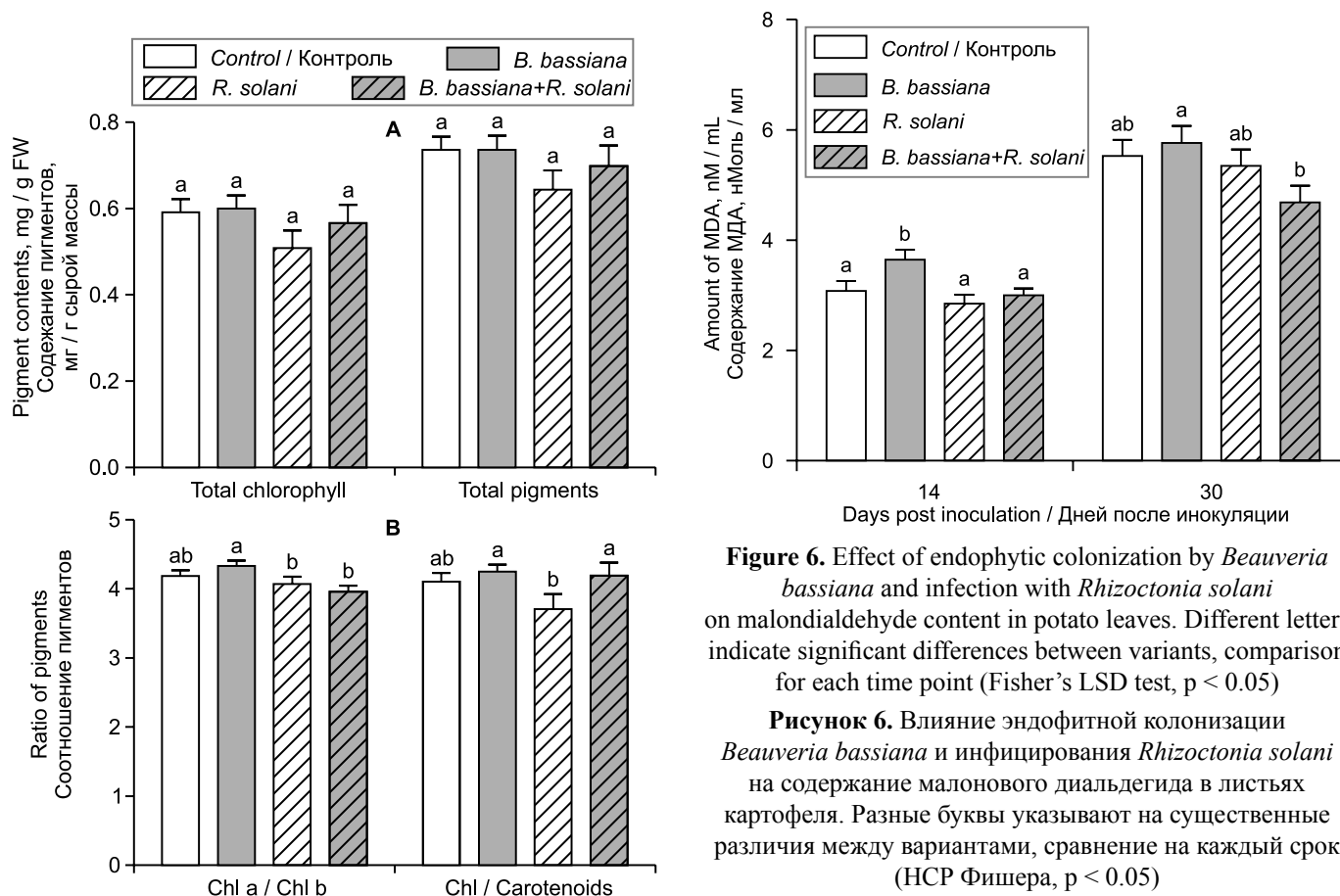


Figure 5. Effect of endophytic colonization by *Beauveria bassiana* and infection with *Rhizoctonia solani* on the content of photosynthetic pigments in potato plants (A) and their ratio (B) (30 dpi). Different letters indicate significant differences between variants (Fisher's LSD test, $p < 0.05$)

Рисунок 5. Влияние эндофитной колонизации *Beauveria bassiana* и инфицирования *Rhizoctonia solani* на содержание фотосинтетических пигментов растений картофеля (A) и их соотношение (B) (30 сут после инокуляции грибами). Различные буквы указывают на существенные различия между вариантами (НСР Фишера, $p < 0.05$)

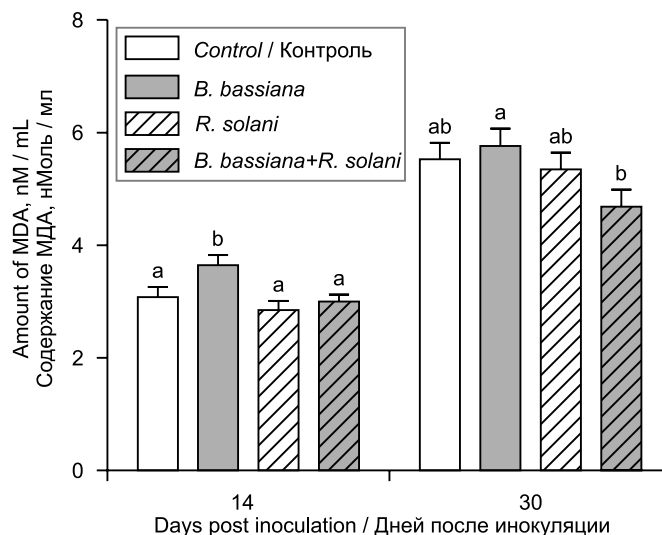


Figure 6. Effect of endophytic colonization by *Beauveria bassiana* and infection with *Rhizoctonia solani* on malondialdehyde content in potato leaves. Different letters indicate significant differences between variants, comparison for each time point (Fisher's LSD test, $p < 0.05$)

Рисунок 6. Влияние эндофитной колонизации *Beauveria bassiana* и инфицирования *Rhizoctonia solani* на содержание малонового диальдегида в листьях картофеля. Разные буквы указывают на существенные различия между вариантами, сравнение на каждый срок (НСР Фишера, $p < 0.05$)

level at the first measurement (14 dpi): *B. bassiana* (two-factor ANOVA, $F_{1,74} = 4.138$, $p = 0.046$) and *R. solani* ($F_{1,74} = 9.323$, $p = 0.003$). By the end of the experiment, the influence of the *R. solani* factor was significant ($F_{1,74} = 9.063$, $p = 0.006$).

A significant change in enzymatic activity was detected in potato leaves in both the first and second measurements (Fig. 7A–D). The maximum increase in antioxidant enzyme activity was observed as a result of the combined application of fungi. However, while a significant increase in activity for the three enzymes studied (POX, SOD and PPO) was noted in the first period (14 dpi), with increases of 1.5–1.6 times compared to the control (Fisher's LSD test, $p \leq 0.004$). In

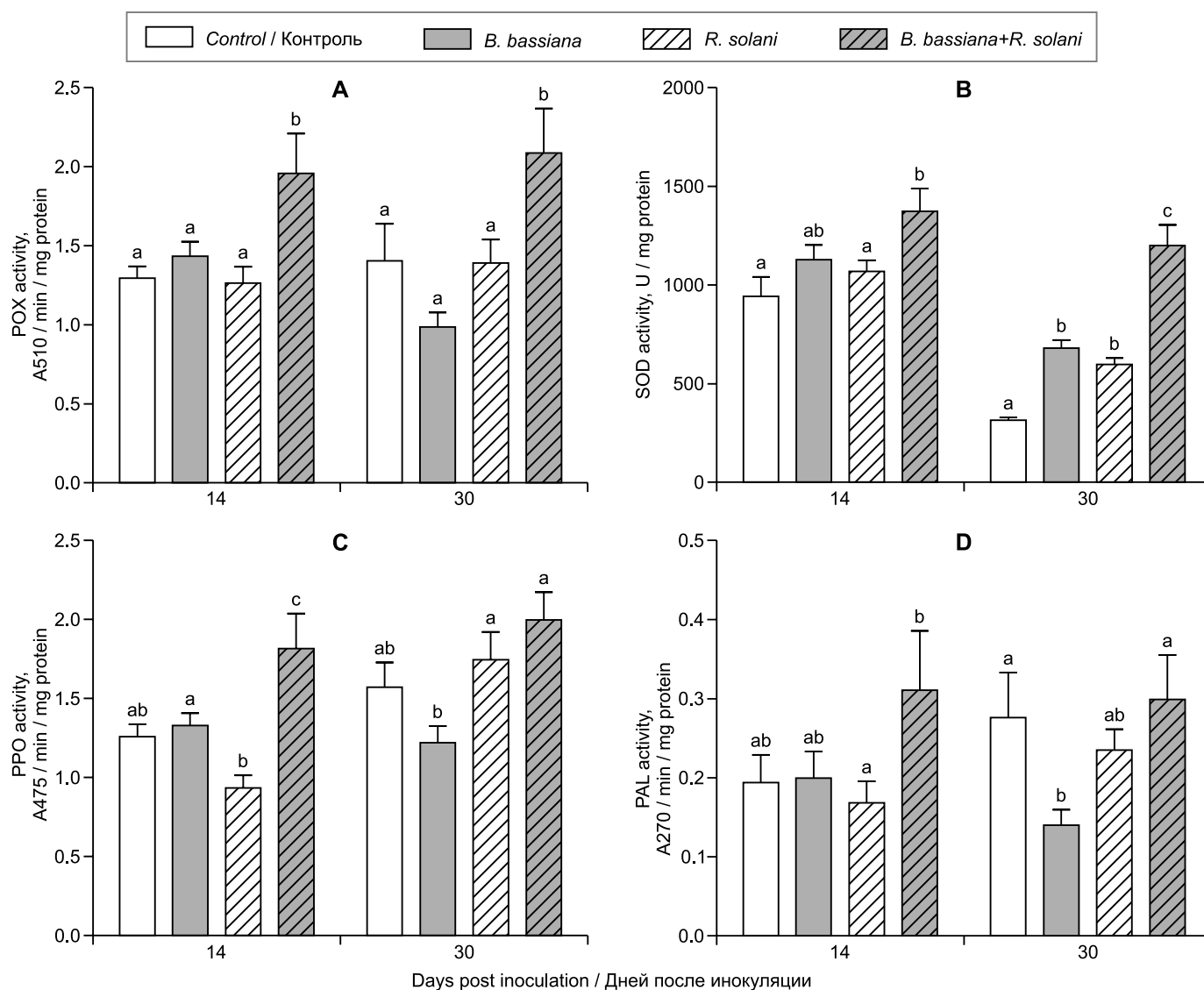


Figure 7. The impact of endophytic colonization by *Beauveria bassiana* and infection with *Rhizoctonia solani* on enzyme activity in potato leaves: peroxidase, POX (A); superoxide dismutase, SOD (B); polyphenol oxidase, PPO (C) and L-phenylalanine-ammonium-lyase, PAL (D). Different letters indicate significant differences between the variants compared at each time point (Fisher's LSD test, $p < 0.05$)

Рисунок 7. Влияние эндофитной колонизации *Beauveria bassiana* и инфицирования *Rhizoctonia solani* на ферментативную активность в листьях картофеля: пероксидаз, POX (A); супероксиддисмутаза, SOD (B); полифенолоксидаз, PPO (C) и L-фенилаланин-аммоний-лиазы, PAL (D). Разные буквы указывают на существенные различия между вариантами, сравниваемыми на каждый срок (НСР Фишера, $p < 0.05$)

the second period (30 dpi), this was only observed for POX and SOD, with an increase of 1.5–3.8 times compared to the control ($p \leq 0.036$). The mono-inoculation of fungi alone led to a significant increase in SOD activity after 30 dpi, with growth observed when the endophyte and phytopathogen were both present. It should also be noted that the introduction of *B. bassiana* was accompanied by a slight increase in enzyme activity at the first measurement and a decrease at the second one (with the exception of SOD).

The inoculation of plants with *B. bassiana* had a reliable

effect on the antioxidant enzyme system of potato plants, with the effect being maximal for POX, SOD and PPO at 14 dpi (two-factor ANOVA, $F_{1,74} \geq 6.702$, $p \leq 0.012$). The effect of *R. solani* infection (POX, SOD and PPO – $F_{1,74} \geq 6.702$, $p \leq 0.016$) and the interaction between the two factors (POX, SOD and PAL – $F_{1,74} \geq 4.500$, $p \leq 0.037$) were more pronounced after 30 dpi. Of the enzymes studied, SOD demonstrated the greatest reactivity, with its activity influenced by both factors, i.e. the introduction of *B. bassiana* and *R. solani*, resulting in a significant effect at both time points.

Discussion

In this study, we investigated the effect of endophytic colonization of *B. bassiana* on the plant growth promotion and development of resistance to the black scab pathogen *R. solani* in potatoes. It has been established that colonization by the entomopathogenic fungus *B. bassiana* stimulates

potato growth. A statistically significant increase in the length and mass of plants colonized by the endophyte has been demonstrated. These results align with those of previous studies on Solanaceae plants (Saragih et al., 2019; Tomilova et al., 2022; Wilberts et al., 2023). In particular, inoculation

with *B. bassiana* led to a significant increase in the root length of tomato seedlings and the height of potted plants (Sui et al., 2023), as well as growth stimulation chili pepper seedlings and plants (Saragih et al., 2019). In our previous work, we observed an increase in the height of inoculated plants and an earlier onset of the sweet pepper budding stage under the influence of *B. bassiana* (Tomilova et al., 2022), as well as a significant increase in the number of stolons in potatoes (Tomilova et al., 2023).

Inoculation with *B. bassiana* can compensate for growth retardation in plants that have been artificially infected with phytopathogens or grown in an environment with an artificial phytopathogenic load. For instance, a notable increase in tomato yield was observed in a field experiment in which tomatoes were treated with spores of *B. cinerea* and *B. bassiana* (Sui et al., 2023). In our experiment, plants infected with *R. solani* and treated with endophytes exhibited similar length and weight values compared to the control group. The development of rhizoctoniosis in the absence of the endophytes was accompanied by a significant growth delay and decreased photosynthetic pigment content of marginal significance. The combined application of the fungi led to an equalisation of chlorophyll levels, which further contributed to the activation of growth processes.

In earlier *in vitro* experiments on the co-cultivation of the entomopathogenic fungi *B. bassiana* and *Metarhizium robertsii* with *R. solani*, we demonstrated their antagonistic interactions (Tomilova et al., 2020). Both entomopathogenic fungi were found to be capable of enveloping and degrading aerial mycelium, as well as delaying the formation of *R. solani* sclerotia. Subsequently, Deb et al. (2023) established mycoparasitism of *B. bassiana*, accompanied by the deformation, plasmolysis, and death of *R. solani* cells. It was also noted that the formation of phytopathogenic sclerotia was either delayed or inhibited in the presence of volatile compounds released by *B. bassiana* mycelium during its growth (Deb et al., 2023). Based on these findings, we hypothesized that the fungal strains selected for our study would actively compete to establish trophic relationships with potato plants. This hypothesis was supported by colonization data, which revealed that while mono-inoculation resulted in high colonization rates, co-inoculation significantly reduced plant colonization – particularly by the phytopathogen (2.4-fold decrease). We observed a significant reduction of Rhizoctonia infection of potato stems and forming stolons through the combined application of fungal inoculants. These results align with existing literature on the growth suppression of *R. solani* by *B. bassiana* in laboratory and greenhouse conditions on various crops, including cotton, tomato, and cucumber (Griffin et al., 2005; Ownley et al., 2008; Azadi et al., 2016; Rhouma et al., 2024). Notably, a significant reduction in Rhizoctonia disease development on plants colonized by *B. bassiana* was also observed under field conditions. In particular, combined treatments of rice with *B. bassiana* (seed treatment, seedling root dipping, and foliar spraying) reduced the incidence and severity of the sheath blight disease caused by *R. solani* by 69% and 61%, respectively (Deb et al., 2023). Our previous studies showed that treatment of seed tubers with *B. bassiana* conidia prior to planting provides protection against Rhizoctonia disease, even at high infection levels. Specifically, this treatment reduced the development of disease on potato

plant stems by 3.61-fold and on stolons by 2.2-fold, and also decreasing the formation of *R. solani* sclerotia on the surface of new crop tubers (Tomilova et al., 2020).

However, most authors argue that the disease-reducing effect is due not only to antimicrobial properties of *B. bassiana* against *R. solani*, but also to its ability to activate the plant's defense mechanisms. We investigated the level of MDA, which indicates the presence of oxidative stress, as well as the activity of antioxidant enzymes in the leaves of plants colonized by the endophyte and the phytopathogen. It was interesting to compare the reaction of potato plants to the introduction of these fungi, both separately and jointly, into the tissue, and to observe the changes in the plants' immune status.

The presence of weak oxidative stress resulting from *B. bassiana* colonization was indicated by increased malondialdehyde levels, particularly in the initial stage (1.2 times higher than the control). Nevertheless, plant growth was enhanced in this variant. It is likely that the stress caused to the plants by endophytic colonization did not exceed the potatoes' adaptive capacity. The work of Nchu et al. (2022) shows stimulation of the growth of tomatoes inoculated with *B. bassiana* at higher ROS levels. Notably, the combined inoculation of fungi after 30 days resulted in a 1.2-fold decrease in MDA levels compared to the control and the inoculation of *B. bassiana* alone. Apparently, this decrease in the mixture may be due to the sharp increase in antioxidant enzyme activity.

In the first assessment (after 14 dpi), a significant increase in the activity of antioxidant enzymes was observed (by 45–60% in potato leaves when the fungi were applied together). SOD showed the greatest increase under the influence of the fungal mixture on the 30th day of the experiment (278%). Similar induction of POX and PAL enzyme activity, as well as an increase in the concentration of phenolic compounds, in tomato plants, was reported by Azadi et al. in 2016 as a result of treatment with *B. bassiana*. The authors demonstrated that colonized plants can successfully control tomato blight caused by *R. solani* by stimulating induced systemic resistance.

It is known that a number of antioxidant enzymes are actively involved in the biosynthesis of polyphenolic protective compounds in plants (e.g., POX, PPO, and PAL). Recently, we also studied the content of phenolic compounds in potato leaves inoculated with *B. bassiana*. Peak values of flavonoid content and antioxidant activity were observed in the phase of plant colonization by the fungus, which probably enhanced resistance to biotic stress (Tomilova et al., unpublished data). We have previously demonstrated an increase in the levels of stigmasterol, minor sterols and certain hydroxy fatty acids in potato leaves colonized by *B. bassiana*. Elevated levels of hydroxycinnamic acids, especially chlorogenic acid, were observed in roots after inoculation with *B. bassiana*. We believe that these changes could also have been caused by oxidative reactions (Tyurin et al., 2023).

Changes in the activity of plant defense enzymes are often recorded based on the level of expression of genes related to disease resistance. A significant increase in the relative expression levels of three disease resistance-associated genes (oxalate oxidase, chitinase and ATP synthase) was observed in tomato plants inoculated with *B. bassiana* and *B. cinerea*, compared to mono-inoculation with *B. cinerea* and the control treatment (Sui et al., 2023). Consequently, the incidence,

lesion diameter and disease index of grey mould (*B. cinerea*) were significantly lower in tomato plants inoculated with *B. bassiana* than in untreated plants, in both pot experiments and field conditions. Maximov et al. (2015) demonstrated that, under sterile conditions, *B. bassiana* can colonize potato plants *in vitro* and increase the transcriptional activity of genes responsible for synthesising anion peroxidase and proteinase inhibitors. According to the authors, this led to a reduction in the development of late blight (Maksimov et al., 2015). Raad et al. (2019) presented data showing that *Arabidopsis* colonized by *B. bassiana*, exhibits induced resistance to *Sclerotinia sclerotiorum* based on increased regulation of pathogenesis-related proteins, as well as activation of reactive oxygen species (ROS) scavengers, camalexin, phytohormones, and other defense-related genes.

It is interesting to note that, in our experiments, mono-infection with *R. solani* did not lead to an increase in MDA or the activation of antioxidant enzymes, with the exception

of SOD at 30 days. Similar effects were observed Nchu et al. (2022) in tomatoes infected with the fusarium wilt pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: low levels of superoxide and hydroxyl radicals, and low antioxidant enzyme activity. In contrast, colonization of tomatoes by *B. bassiana* caused an increase in ROS and antioxidant activity (Nchu et al., 2022). The authors suggested that the pathogenic fungus may have employed a hiding strategy to evade the host's immune response, in contrast to the endophyte.

Probably in response to endophytic colonization by *B. bassiana*, accompanied by oxidative stress and activation of a complex of antioxidant enzymes, various physiological systems of the host-plant are involved, which are aimed at inducing systemic plant resistance, stimulating the production of secondary metabolites and plant growth hormones (Jaber, Ownley, 2017; González-Guzmán et al., 2022), finally leading to the growth-stimulating and protective effect of *B. bassiana* on plants.

Conclusion

Thus, colonization of potato plants by the endophytic entomopathogenic fungus *B. bassiana* under biotic stress (*R. solani* infection) induced changes in multiple physiological parameters and key plant immunity markers, ultimately enhancing stress resistance. Under experimental conditions, both *B. bassiana* colonization and *R. solani* infection significantly influenced most of the measured parameters. Treatment with *B. bassiana* reduced Rhizoctonia-induced damage and mitigated the negative effects of infection on plant growth, particularly root development. Stress resistance in plants appears to be closely associated with their capacity to

counteract oxidative stress. The primary antioxidants involved are protective enzymes, which are synthesized in response to fungal invasion. A significant increase in antioxidant activity was observed following *B. bassiana* colonization, as well as in the combined treatment with both fungi. Mono-inoculation with *B. bassiana* triggered an earlier antioxidant response (14 dpi), whereas the maximum increase in antioxidant levels under co-inoculation coincided with the onset of disease symptoms (30 dpi). These results demonstrate the potential of *B. bassiana* to stimulate potato growth and mitigate the impact of black scurf disease.

Acknowledgements

The authors would like to thank Drs. E.M. Shaldyayeva and Yu.V. Pilipova for preparing the *R. solani* infectious material and for their assistance in developing the methodology for artificially infecting potatoes.

This research was funded by Russian Science Found (RSF), grant number 19-14-00138.

References

- Akter T, Mimma AA, Haque MA, Hossain MM et al (2023) Seed priming with *Beauveria bassiana* improves growth and salt stress response in rice. *Environ Exp Bot* 213:105427. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2023.105427>
- Allegrucci N, Velazquez MS, Russo ML, Perez E, Scorsetti AC (2017) Endophytic colonization of tomato by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: the use of different inoculation techniques and their effects on the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *JPPR* 57(4): 331–337. <https://doi.org/10.1515/jppr-2017-0045>
- Ashmarina LF, Lednev GR, Tomilova OG, Sadokhina TA et al (2021) Effect of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on the development of faba bean (*Vicia faba*) diseases in the field conditions. *Dokl Biochem Biophys* 499(1):260–265. <https://doi.org/10.1134/S1607672921040013>
- Assis JS, Maldonado R, Muñoz T, Escribano MI, Merodio C (2001) Effect of high carbon dioxide concentration on PAL activity and phenolic contents in ripening cherimoya fruit. *Postharvest Biol Technol* 23(1): 33–39. [https://doi.org/10.1016/S0925-5214\(01\)00100-4](https://doi.org/10.1016/S0925-5214(01)00100-4)
- Azadi N, Shirzad A, Mohammadi H (2016) A study of some biocontrol mechanisms of *Beauveria bassiana* against *Rhizoctonia* disease on tomato. *Acta Biol Szeged* 60(2):119–127. <https://abs.ek.szte.hu/index.php/abs/article/view/2898>
- Bamisile BS, Dash CK, Akutse KS, Keppanan R, Wang L (2018) Fungal endophytes: beyond herbivore management. *Front Microbiol* 9:544. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00544>
- Barra-Bucarei L, Iglesias AF, González MG, Aguayo GS et al (2020) Antifungal activity of *Beauveria bassiana* endophyte against *Botrytis cinerea* in two Solanaceae crops. *Microorganisms* 8:65. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010065>
- Beauchamp C, Fridovich I (1971) Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal Biochem* 44(1):276–287. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)
- Behie SW, Jones SJ, Bidochka MJ (2015) Plant tissue localization of the endophytic insect pathogenic fungi *Metarhizium* and *Beauveria*. *Fungal Ecol* 13:112–119. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.08.001>
- Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. *Anal Chem* 72:248–254
- Buege JA, Aust SD (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 52:302–310

- Dara SK, Dara SSD, Dara SS (2017) Impact of entomopathogenic fungi on the growth, development, and health of cabbage growing under water stress. *Am J Plant Sci* 8:1224–1233. <https://doi.org/10.4236/ajps.2017.86081>
- Deb L, Dutta P, Mandal MK, Singh SB (2023) Antimicrobial traits of *Beauveria bassiana* against *Rhizoctonia solani*, the causal agent of sheath blight of rice under field conditions. *Plant Dis* 107(6):1739–1756. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-22-0806-RE>
- Espinoza F, Vidal S, Rautenbach F, Lewu F, Nchu F (2019) Effects of *Beauveria bassiana* (Hypocreales) on plant growth and secondary metabolites of extracts of hydroponically cultivated chive (*Allium schoenoprasum* L. [Amaryllidaceae]). *Heliyon* 5:e03038. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e03038>
- Ferus P, Barta M, Konôpková J (2019) Endophytic fungus *Beauveria bassiana* can enhance drought tolerance in red oak seedlings. *Trees* 33:1179–1186. <https://doi.org/10.1007/s00468-019-01854-1>
- Frank JA, Leach SS, Webb RA (1976) Evaluation of potato clone reaction to *Rhizoctonia solani*. *Plant Dis Rep* 60(11):910–912
- Gana LP, Etsassala NGER, Nchu F (2022) Interactive effects of water deficiency and endophytic *Beauveria bassiana* on plant growth, nutrient uptake, secondary metabolite contents, and antioxidant activity of *Allium cepa* L. *J Fungi* 8:874. <https://doi.org/10.3390/jof8080874>
- Geremew D, Shiberu T, Leta A (2024) Evaluation of endophytic colonization and establishment of entomopathogenic fungi against *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato plants. *F1000Research* 13:800. <https://doi.org/10.12688/f1000research.148658.1>
- Gonzalez-Guzman A, Raya-Diaz S, Sacristán D, Yousef M et al (2021) Effects of entomopathogenic fungi on durum wheat nutrition and growth in the field. *Eur J Agron* 128:126282. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2021.126282>
- González-Guzmán A, Rey MD, Froussart E, Quesada-Moraga E (2022) Elucidating the effect of endophytic entomopathogenic fungi on bread wheat growth through signaling of immune response-related hormones. *Appl Environ Microbiol* 88(18):e0088222. <https://doi.org/10.1128/aem.00882-22>
- Griffin MR, Ownley BH, Klingeman WE, Pereira RM (2005) Biocontrol of *Rhizoctonia* damping-off of cotton with endophytic *Beauveria bassiana*. *Phytopathology* 95:S6
- Guo W, Lu Y, Du S, Li Q et al (2024) Endophytic colonization of *Beauveria bassiana* enhances drought stress tolerance in tomato via “water spender” pathway. *Int J Mol Sci* 25(22):11949. <https://doi.org/10.3390/ijms252211949>
- Gupta R, Keppan R, Leibman-Markus M, Rav-David D et al (2022) The entomopathogenic fungi *Metarhizium brunneum* and *Beauveria bassiana* promote systemic immunity and confer resistance to a broad range of pests and pathogens in tomato. *Phytopathology* 112(4):784–793. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-21-0343-R>
- Holzappel C, Shahrokh P, Kafkewitz D (2010) Polyphenol oxidase activity in the roots of seedlings of *Bromus* (Poaceae) and other grass genera. *Amer J Bot* 97(7):1195–1199. <https://doi.org/10.3732/ajb.0900337>
- Iida Y, Higashi Y, Nishi O, Kouda M et al (2023) Entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* –based bioinsecticide suppresses severity of powdery mildews of vegetables by inducing the plant defense responses. *Front Plant Sci* 14:1211825. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1211825>
- Jaber LR (2015) Grapevine leaf tissue colonization by the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* s. l. and its effect against downy mildew. *BioControl* 60(1):103–112. <https://doi.org/10.1007/s10526-014-9618-3>
- Jaber LR, Alananbeh KM (2018) Fungal entomopathogens as endophytes reduce several species of *Fusarium* causing crown and root rot in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Biol Control* 126:117–126. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.08.007>
- Jaber LR, Enkerli J (2016) Effect of seed treatment duration on growth and colonization of *Vicia faba* by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*. *Biol Control* 103:187–195. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.09.008>
- Jaber LR, Ownley BH (2017) Can we use entomopathogenic fungi as endophytes for dual biological control of insect pests and plant pathogens? *Biol Control* 116:36–45. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.01.018>
- Jaber LR, Salem NM (2014) Endophytic colonization of squash by the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) for managing in cucurbits. *Biocontrol Sci Technol* 24(10):1096–1109. <https://doi.org/10.1080/09583157.2014.923379>
- Kryukov VYu, Rotskaya UN, Yaroslavtseva ON, Elisaphenko EA (2017) Phenotypic and genetic changes of entomopathogenic ascomycete *Beauveria bassiana* under passaging through various hosts. *Parazitologiya* 51(1):3–14. (In Russian)
- Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty L, Tamez-Guerra P, Gomez-Flores R, Rodriguez-Padilla MC, Ek-Ramos MJ (2020) Endophytic *Beauveria bassiana* promotes drought tolerance and early flowering in corn. *World J Microbiol Biotechnol* 36(3):47. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02823-4>
- Lichtenthaler HK (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol* 148:350–382
- Liu Y, Yang Y, Wang B (2022) Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* play roles of maize (*Zea mays*) growth promoter. *Sci Rep* 12(1):15706. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-19899-7>
- Lopez DC, Sword GA (2015) The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Purpureocillium lilacinum* enhance the growth of cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*) and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). *Biol Control* 89:53–60. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.03.010>
- Maksimov IV, Sorokan AV, Nafikova AR, Benkovskaya GV (2015) On principal ability and action mechanisms of joint use of *Bacillus subtilis* 26D and *Beauveria bassiana* Ufa-2 preparation for potato protection against *Phytophthora infestans* and *Leptinotarsa decemlineata*. *Micol Fitopatol* 49(5):317–324. (In Russian)
- Mantzoukas S, and Eliopoulos PA (2020). Endophytic entomopathogenic fungi: a valuable biological control tool against plant pests. *Appl Sci* 10:360. <https://doi.org/10.3390/app10010360>

- Mantzoukas S, Lagogiannis I, Mpousia D, Ntoukas A et al (2021) *Beauveria bassiana* endophytic strain as plant growth promoter: the case of the grape vine *Vitis vinifera*. *J Fungi* 7(2):142. <https://doi.org/10.3390/jof7020142>
- Mascarin GM, Jaronski ST (2016) The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World J Microbiol Biotechnol* 32:177. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2131-3>
- McKinnon AC, Saari S, Moran-Diez ME, Meyling NV et al (2016) *Beauveria bassiana* as an endophyte: a critical review on associated methodology and biocontrol potential. *BioControl* 62:1–17. <https://doi.org/10.1007/s10526-016-9769-5>
- Miranda-Fuentes P, García-Carneros AB, Montilla-Carmona AM, Molinero-Ruiz L (2020) Evidence of soil-located competition as the cause of the reduction of sunflower *Verticillium* wilt by entomopathogenic fungi. *Plant Pathol* 69:1492–1503. <https://doi.org/10.1111/ppa.13230>
- Nchu F, Macuphe N, Rhoda I, Niekerk L-A et al (2022) Endophytic *Beauveria bassiana* induces oxidative stress and enhances the growth of *Fusarium oxysporum*-infected tomato plants. *Plants* 11(22):3182. <https://doi.org/10.3390/plants11223182>
- Nicell JA, Wright H (1997) A model of peroxidase activity with inhibition by hydrogen peroxide. *Enzyme Microb Technol* 21:302–310
- Ownley BH, Dee MM, Gwinn K (2008) Effect of conidial seed treatment rate of entomopathogenic *Beauveria bassiana* 11-98 on endophytic colonization of tomato seedlings and control of *Rhizoctonia* disease. *Phytopathology* 98:S118
- Posada FJ, Aime MC, Peterson SW, Rehner SA et al (2007) Inoculation of coffee plants with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Mycol Res* 111:748–757. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.03.006>
- Pourtaghi E, Talaei-Hassanloui R, Nasibi F, Fotouhifar K-B (2020) Endophytic colonization of tomato by *Beauveria bassiana* for control of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Acta Biologica* 27:149–160. <https://doi.org/10.18276/ab.2020.27-14>
- Proietti S, Falconieri GS, Bertini L, Pascale A et al (2023) *Beauveria bassiana* rewires molecular mechanisms related to growth and defense in tomato. *Journal of Experimental Botany* 74(14.3):4225–4243. <https://doi.org/10.1093/jxb/erad148>
- Raad M, Glare TR, Brochero HL, Müller C, Rostás M (2019) Transcriptional reprogramming of Arabidopsis thaliana defense pathways by the entomopathogen *Beauveria bassiana* correlates with resistance against a fungal pathogen but not against insects hormones, plant microbe interaction, *Plutella xylostella*, *Myzus persicae*, *Sclerotinia sclerotiorum*. *Front Microbiol* 10:615. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00615>
- Rhouma A, Hajji-Hedfi L, Bouqellah NA, Khaire PB et al (2024) Uniting the Role of entomopathogenic fungi against *Rhizoctonia solani* JG Kühn, the causal agent of cucumber damping-off and root rot diseases. *Phyton-Int J Exp Bot* 93(11):2857–2881. <https://doi.org/10.32604/phyton.2024.057591>
- Saragih M, Trizelia, Nurbailis, Yusniwati (2019) Endophytic colonization and plant growth promoting effect by entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* to red chili (*Capsicum annum* L.) with different inoculation methods. *IOP Conf Ser: Earth Environ Sci* 305:012070 <https://doi.org/10.1088/1755-1315/305/1/012070>
- Shaaan R, Ibrahim L, As-sadi F, El Kayal W (2022) Impact of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on the metabolic interactions between cucumber (*Cucumis sativus* L.) and Cucumber mosaic virus (CMV). *Horticulturae* 8(12):1182. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8121182>
- Shaaan RS, Gerges E, Habib W, Ibrahim L (2021) Endophytic colonization by *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* induces growth promotion effect and increases the resistance of cucumber plants against *Aphis gossypii*. *JPPR* 61(4):358–370. <https://doi.org/10.24425/jppr.2021.139244>
- Shaldyaeva EM (1990) [Harmfulness of Rhizoctonia potato disease at different levels of soil colonization by the pathogen in the forest-steppe conditions of the Ob region]. *Abstr. Cand. Biol. Thesis*. All-Russian Research Institute of Phytopathology. Moscow. 20 p. (In Russian)
- Silva ACL, Silva GA, Abib PHN, Carolino AT, Samuels RI (2020) Endophytic colonization of tomato plants by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for controlling the South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*. *CABI Agric Biosci* 1:3. <https://doi.org/10.1186/s43170-020-00002-x>
- Sui L, Lu Y, Zhou L, Li N et al (2023) Endophytic *Beauveria bassiana* promotes plant biomass growth and suppresses pathogen damage by directional recruitment. *Front Microbiol* 14:1227269. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1227269>
- Tall S, Meyling NV (2018) Probiotics for plants? Growth promotion by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* depends on nutrient availability. *Microb Ecol* 76(4):1002–1008. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1180-6>
- Toffa J, Loko YLE, Kpindou OKD, Zanzana K et al (2021) Endophytic colonization of tomato plants by *Beauveria bassiana* Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) and leaf damage in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Egypt J Biol Pest Control* 31:82. <https://doi.org/10.1186/s41938-021-00431-4>
- Tomilova OG, Kryukova NA, Efimova MV, Kolomeichuk LV et al (2023) The endophytic entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* alleviates adverse effects of salt stress in potato plants. *Horticulturae* 9(10):1140. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9101140>
- Tomilova OG, Kryukova NA, Efimova MV, Kovtun IS et al (2021) Early physiological response of potato plants to entomopathogenic fungi under hydroponic conditions. *Horticulturae* 7:217. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7080217>
- Tomilova OG, Lednev GR, Volkova NS, Kozlova EG (2022) Effect of the endophytic colonization of *Beauveria bassiana* on the population density of peach aphid (*Myzus persicae*) and the growth parameters of plants. *Plant Protection News* 105(2):94–99. <https://doi.org/10.31993/2308-6459-2022-105-2-15325>
- Tomilova OG, Shaldyaeva EM, Kryukova NA, Pilipova YV et al (2020) Entomopathogenic fungi decrease *Rhizoctonia* disease in potato in field conditions. *PeerJ* 16(8):e9895. <https://doi.org/10.7717/peerj.9895>
- Tyurin M, Kabilov MR, Smirnova N, Tomilova OG et al (2021) Can Potato Plants Be Colonized with the Fungi

- Metarhizium* and *Beauveria* under Their Natural Load in Agrosystems? *Microorganisms* 9(7):1373. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071373>
- Tyurin M, Chernyak E, Tomilova O, Tolokonnikova K (2023) The fungus *Beauveria bassiana* alters amounts of sterols, fatty acids, and hydroxycinnamic acids in potato *Solanum tuberosum*. *Plants* 12:3938. <https://doi.org/10.3390/plants12233938>
- Vega FE (2018) The use of fungal entomopathogens as endophytes in biological control: a review. *Mycologia* 110 (1):4–30. <https://doi.org/10.1080/00275514.2017.1418578>
- Vidal S, Jaber LR (2015) Entomopathogenic fungi as endophytes: Plant–endophyte–herbivore interactions and prospects for use in biological control. *Curr Sci* 109:46–54
- Wang C, Zhang SH, Wang PF, Hou J et al (2008) Metabolic adaptations to ammonia-induced oxidative stress in leaves of the submerged macrophyte *Vallisneria spiralis* (Lour.) Hara. *Aquat Toxicol* 87(2): 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.01.009>
- Wang X, Yan G, Liu W, Chen H et al (2023) Endophytic *Beauveria bassiana* of tomato resisted the damage from whitefly *Bemisia tabaci* by mediating the accumulation of plant-specialized metabolites. *J Agric Food Chem* 71(36):13244–13254. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c03679>
- Wei QY, Li YY, Xu C, Wu Y-X et al (2020) Endophytic colonization by *Beauveria bassiana* increases the resistance of tomatoes against *Bemisia tabaci*. *Arthropod-Plant Interactions* 14:289–300. <https://doi.org/10.1007/s11829-020-09746-9>
- Wilberts L, Rojas-Preciado N, Jacquemyn H, Lievens B (2023) Fungal strain and crop cultivar affect growth of sweet pepper plants after root inoculation with entomopathogenic fungi. *Front Plant Sci* 14:1196765. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1196765>
- Zhang MD, Wu SY, Yan JJ, Reitz S, Gao YL (2023) Establishment of *Beauveria bassiana* as a fungal endophyte in potato plants and its virulence against potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Insect Sci* 30(1):197–207. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.13049>
- Zimmermann G (2007) Review on safety of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Sci Technol* 17:553–596. <https://doi.org/10.1080/09583150701309006>

Вестник защиты растений, 2025, 108(3), с. 164–174

OECD+WoS: 4.01+AM (Agronomy); 1.06+QU (Microbiology)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2025-108-3-17167>

Полнотекстовая статья

ЭНДОФИТНЫЙ ГРИБ *BEAUVERIA BASSIANA* ИНДУЦИРУЕТ АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ И УСИЛИВАЕТ РОСТ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ, ИНФИЦИРОВАННОГО *RHIZOCTONIA SOLANI*

О.Г. Томилова^{1,2*}, Х.П. Толоконникова¹, М.В. Тюрин¹, Н.А. Крюкова¹

¹Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск

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

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

Проведен анализ физиологических и биохимических изменений растений картофеля, колонизированных эндофитной формой энтомопатогенного гриба *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) на фоне биотического стресса, обусловленного внесением инфекционной нагрузки фитопатогена *Rhizoctonia solani* (Basidiomycetes: Ceratobasidiales). Установлена высокая доля колонизации растений энтомопатогенным эндофитом, причем на степень колонизации растений инфицирование *R. solani* не оказало существенного влияния. Колонизация картофеля *B. bassiana* компенсировала отставание в росте зараженных *R. solani* растений (особенно корней) и обеспечила существенное снижение поражения ризоктониозом стеблей и формирующихся столонов. Инокуляция *B. bassiana* усилила антиоксидантную активность в растениях, инокулированных обоими грибами. Установлено значительное повышение активности антиоксидантных ферментов (пероксидаз, супероксиддисмутаз, полифенолоксидаз и фенилаланин-аммоний-лиазы). На основании проведенных экспериментов можно утверждать, что в преодолении биотического стресса, вызванного инфицированием *R. solani*, *B. bassiana* запускает активизацию защитной системы растения-хозяина, а именно комплекса антиоксидантных ферментов. Таким образом, *B. bassiana* может выступать в качестве перспективного модулятора защитного метаболизма растений по отношению к фитопатогенам.

Ключевые слова: энтомопатогенный гриб, грибной фитопатоген, окислительный стресс, антиоксидантные ферменты, индуцированная устойчивость, защита растений

Поступила в редакцию: 18.07.2025

Принята к печати: 10.09.2025

THE USE OF INTEGRATED METHODS FOR CONTROLLING THE TOBACCO THRIPS *THRIPS TABACI* ON EGGPLANT UNDER GREENHOUSE CONDITIONS

D. Undarmaa^{1*}, A. Siiriimaa², Z. Altantsetseg^{1,3}

¹School of Agroecology, Mongolian University of Life Sciences, Zaisan, Ulaanbaatar, Mongolia

²Plant Protection Institute, Zaisan, Ulaanbaatar, Mongolia

³University of Food industry and Technology, Ulaanbaatar, Mongolia

*corresponding author; e-mail: undarmaa@mul.s.edu.mn

The tobacco thrips *Thrips tabaci* is a prevalent insect-pest found worldwide, extensively distributed in greenhouses of Mongolia. This study aimed to evaluate the effectiveness of predatory mites and botanical pesticides in controlling tobacco thrips populations in eggplant crops. An experiment was conducted in a 120 m² greenhouse at the “Agropark” Experimental Research Center of the Mongolian University of Life Sciences. Four treatments were applied to infested eggplant plots: a) the predatory mite *Amblyseius swirskii*, b) *A. swirskii* combined with Neem oil; c) Neem oil alone; and d) Neem oil combined with bio-stimulant BEB containing extract of the fungus *Ganoderma lucidum*. The average mortality rates of tobacco thrips across three years ranged from 45 % to 93 % due to *A. swirski*, 77 % to 97 % due to *A. swirskii* plus Neem oil, 75 % to 96 % due to Neem oil; and 77 % to 96 % due to Neem oil plus BEB. All treatments demonstrated promising results in significantly reducing thrips populations under greenhouse conditions. However, to ensure the effectiveness of biological control, it is important to release predatory mites at least five days after the application of botanical insecticides, such as Neem oil. Based on the findings, we recommend the use of *Amblyseius swirskii*, either alone or in combination with botanical products, as a safe and effective plant protection measure for controlling tobacco thrips in greenhouse-grown eggplants.

Keywords: integrated pest control, predatory mite, *Amblyseius swirskii*, botanical insecticide, plant growth regulator

Submitted: 30.03.2025

Accepted: 27.07.2025

Introduction

The tobacco thrips *Thrips tabaci* Lindeman (Fig. 1A), commonly known as the onion thrips or tobacco thrips, belongs to the class Insecta, order Thysanoptera, family Thripidae (Mehle, 2012). It is a tiny, slender insect of a significant agricultural threat due to its direct feeding damage, ability to transmit plant viruses, and rapid development of insecticide resistance (Riley, 2011). This harmful arthropod is widespread in many countries around the world (Loredo, 2022), where it infests various plants, including onions, garlic, tobacco, cotton, and ornamental plants (Lewis, 1997), and causes damage in non-agricultural areas, such as forested regions and natural habitats, as well as cultivated fields (Chuluunjav et al., 2015).

In Mongolia, while tobacco thrips was first reported on vegetable fields by Tsendsuren et al. (1979), systematic studies on Thripidae taxonomy remained lacking (Chogsomjav, Shuravenkov, 1965). The integrated morphological and molecular analysis identified collected specimens as *T. tabaci*, showing complete genetic congruence with Chinese populations (Genbank accession # MN036455) (Yan Lan Xie, 2022). This confirmation led to our NCBI GenBank submission (#OP288232), establishing the first molecular record of this pest in Mongolia (Altantsetseg, Undarmaa, 2023).

Management of *T. tabaci* remains challenging due to its high reproductive rate, cryptic behavior, and resistance to multiple chemical insecticides. Integrated pest management (IPM) strategies, including biological control, cultural practices, and selective insecticide use, are essential for

sustainable control (Mound, Kibby, 1998). The primary strategy for controlling the tobacco thrips has long relied on synthetic insecticides, including organophosphates (e.g., chlorpyrifos), pyrethroids (e.g., lambda-cyhalothrin), and neonicotinoids (e.g., imidacloprid) (Benelli et al., 2016; Campos et al., 2016). However, the intensive use of these chemicals has led to several negative consequences: *T. tabaci* has developed resistance to multiple chemical classes due to its short life cycle, high reproductive rate, and overexposure to insecticides. Resistance to spinosad, abamectin, and pyrethroids has been widely documented, reducing the efficacy of chemical control (MacIntyre Allen, 2005). Given these challenges, IPM approaches are essential for sustainable *T. tabaci* control (Undarmaa et al., 2015), including the use of biological control agents, such as predatory mites and entomopathogenic fungi (Riudavets, 1995).

Biological methods, when applied appropriately, offer a safer and more environmentally friendly alternative. Therefore, this study explores the use of biological methods and the potential benefits they offer in terms of both effectiveness and environmental impact (Yaşarakıncı et al., 2000). Another potential pest treatment is the synergistic effect of Neem oil with beneficial arthropods in an IPM program. Neem oil contains at least 100 biologically active compounds. Among them, the major components are triterpenes known as limonoids, the most important being azadirachtin, which is responsible for about 90 % of the effects on most pests (Campos et al., 2016).

The several challenges was found in using Neem oil for pest control. The findings of Feng and Isman (1995) highlighted that repeated exposure to pure azadirachtin led to significant resistance (9-fold) in *Myzus persicae* after 40 generations, whereas resistance did not develop in peach aphids treated with a multi-component Neem seed extract, underscoring the potential of botanical blends with diverse bioactive compounds to delay resistance evolution compared to single-active ingredient insecticides (Feng, Ishman, 1995). Moreover, there are significant risks due to its low residual power; multiple applications are required, which can increase

selection pressure on pest populations and potentially lead to resistance.

The objective of this study is to test a treatment for mitigating tobacco thrips infestations, with a particular focus on meeting organic cultivation requirements. Within the scope of this study, our goal was to investigate and assess the effectiveness of biological control agents by applying predatory mites and botanical pesticides on eggplants inhabited by the tobacco thrips population in the greenhouse.

The objective of this study is to test a treatment for mitigating tobacco thrips infestations, with a particular focus on meeting organic cultivation requirements.

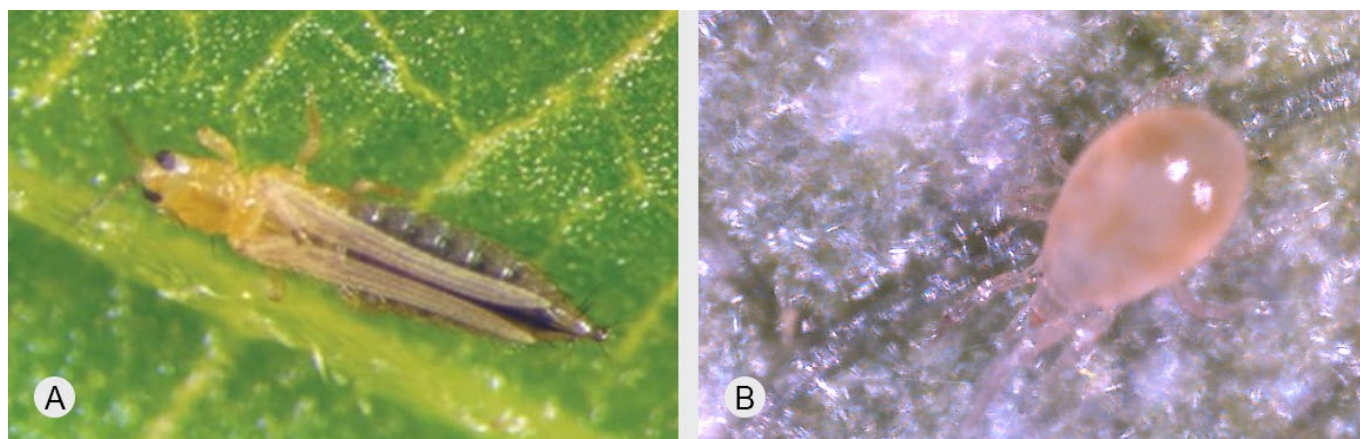


Figure 1. Tobacco thrips *Thrips tabaci* (A) and predatory mite *Amblyseius swirskii* (B)
Рисунок 1. Табачный трипс *Thrips tabaci* (A) и хищный клещ *Amblyseius swirskii* (B)

Materials and Methods

Location of experimental plot

The study was conducted in the eggplant greenhouse with a size of 120 m² at the “Agropark” (47.879458° N latitude, 106.914666° E longitude) field experimental research center of the Mongolian University of Life Sciences during the plant growth seasons in 2017–2019. This center is situated in the Zaisan Valley in the Khan-Uul District of Ulaanbaatar, the capital of Mongolia. The territory of Mongolia lies within the middle latitudes of Central Asia, in the Northern Hemisphere. According to the world’s soil and climate classifications, Mongolia exhibits a cool climate in terms of heat resources and falls under the category of a dry and arid region with regards to humidity. It is situated in a region characterized by a continental climate, covering an area of 1,569.9 thousand km², with elevations reaching 1,380 meters above sea level. The study was conducted in the Zaisan Valley, which is a part of Bogdkhan Mountain, a subrange of the Khentii Mountains. In terms of climate characterization, the Zaisan Valley locates within the humid and temperate sub-region of Mongolia’s central agricultural region. (Jambaajamts, 1983). Annual rainfall ranges from 250 to 270 mm. The cumulative heat units during the plant growth period range from 1500 to 2200 °C degree-days, and the plant growth period lasts for 90 to 100 days. The soil exhibits a light mechanical composition with a high water absorption capacity, predominantly consisting of dark brown, brown, and light brown soils. The cultivated area is situated at an elevation of 800 to 1100 meters above sea level (Jambaajamts, 1983).

The greenhouse used in our experiment, made of plastic material, was not equipped with any systems to regulate

temperature or humidity. Therefore, its internal climate closely reflected the external conditions. Air temperature and relative humidity were measured every 10 days at midday from May to September, continuing until the end of the harvest period. In Mongolia, the climate is characterized by large temperature differences between day and night, even during the summer.

Based on the greenhouse’s three-year average temperature and humidity data during the plant growth period—particularly from May to August, which is critical for plant development—the 10-day averages were as follows: temperature ranged from 21.1 °C to 24.9 °C, and relative humidity ranged from 36.1 % to 71.3 % (Fig. 2).

The soil at the location where the greenhouse was placed was used in this experiment; no artificial or imported soil was exploited.

Research materials

In these experiments, we utilized the predatory mite *Amblyseius swirskii* (Athias-Henriot) (Fig. 1B), purchased from the Koppert company in the Netherlands. It was reared in the laboratory for research purposes since 2015. Additionally, we imported the botanical pesticide, the neem oil, from the USA and obtained a natural plant growth regulator, BEB, from China, which reduces plant stress and promotes its growth. Neem oil is a natural pesticide derived from the seeds of the Neem tree *Azadirachta indica* Juss (Meliaceae). It is widely used in agriculture and horticulture for its effectiveness against a variety of pests and diseases. The primary active ingredient in Neem oil is azadirachtin, which disrupts insect feeding and reproduction (Benelli et al. 2016). BEB is the trade abbreviation for the Plant Cell Energy Factor, developed by

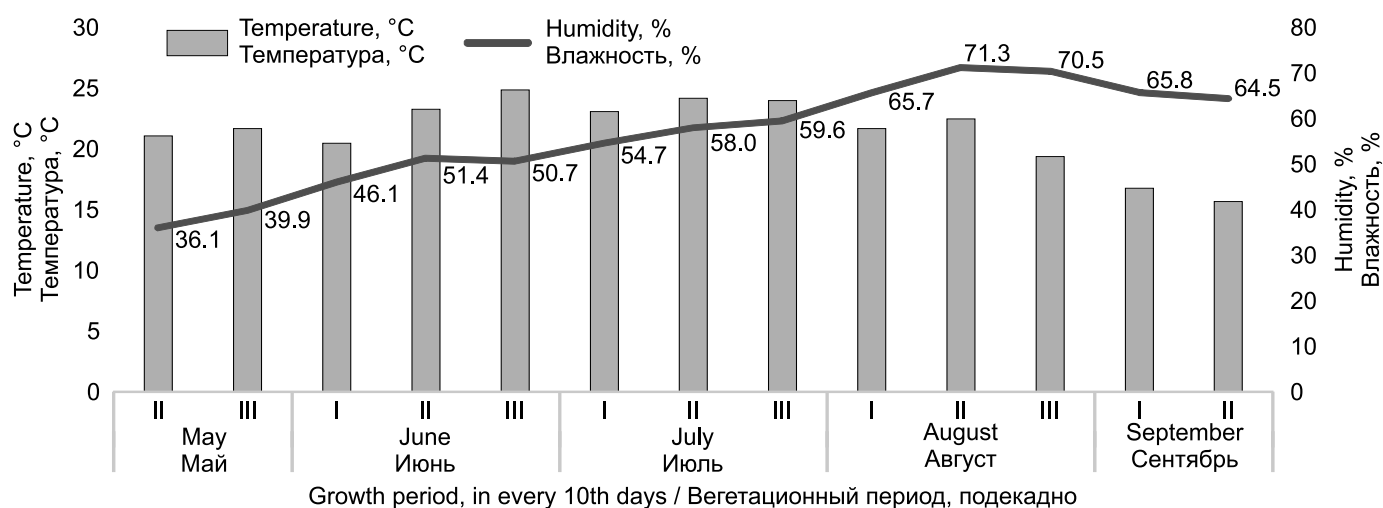


Figure 2. Mean temperature and humidity values during the growth period in the greenhouse during three years of study

Рисунок 2. Средние значения температуры и влажности вегетационного периода в теплице в течение трёх лет исследования

Langfang Weijin Agricultural Technology Co., Ltd. (Langfang Weijin ..., 2025). It is formulated from ingredients such as red chaga mushroom *Ganoderma lucidum*, oyster shell, and corn, designed to support plant recovery and enhance pest resistance.

Experimental design

Between 2017 and 2019, following the onset of tobacco thrips infestation in the greenhouse eggplant plot, research was conducted to evaluate four treatments against the pest and an untreated control, each with four replications. The experiment for controlling tobacco thrips was tested in 20 plots, each with a size of 6 sqm, and in each plot, 24 plants were grown. In total, 480 plants were used for the experiment, with each plot being replicated four times. The experimental layouts were arranged in a Completely Randomized design (CR), with each plot positioned 60 cm apart and separated by a mesh curtain. Subsequently, we randomly allocated the five treatments including untreated control to the plots in each row, so that there is one replicate per row.

The following treatments were applied: variant A: the predatory mite *A. swirskii* at 1:5 ratio (predator:pest); variant B: *A. swirskii* 11:5 +Neem oil (30 ml/4.5 liters of water); variant C: Neem oil; variant D: Neem oil + BEB (20 ml/10 liters of water); variant E: untreated control. For variant B, Neem oil treatment was followed by predatory mite application five days later.

Data collection and analysis

The results of these biological control treatments were determined by assessing the percentage of thrips mortality. The assessment involved counting the number of surviving insects before the treatment and at intervals of 24 hours, 5-,

10-, 15-, and 20-days post treatment on marked plants, using a digital magnifier with 200x–1000x magnification. The number of survived thrips per 25 leaves was counted on marked plants per plot (total 100 leaves per treatment).

The weight and number of commercially mature fruits per plant were recorded from a 1 m² area of each variant at harvest time, and the total yield of each plot was calculated separately. The usable yield was determined by counting and weighing each fruit over a period of 3–5 days during the ripening stage.

Data analysis for effect of treatments was conducted using Excel Data Analysis and One way ANOVA with the Student-Newman-Keuls (Sigmaplot.15 version). To perform polynomial trend analysis in Excel, we fit our data into a polynomial regression equation. The general form of a second-degree (quadratic) polynomial trendline is:

$$y = ax^2 + bx + c$$

Where: y is the number of individuals (dependent variable), x is the time after treatment (independent variable, e.g., 0, 1, 5, 10 for days), a,b,c are determined by regression coefficients.

The effectiveness of treatments was calculated using Henderson-Tilton's formula (1955), which involves the following formula:

$$\text{Efficacy (\%)} = 1 - \frac{n_{Co, before} \times n_{T, after}}{n_{Co, after} \times n_{T, before}} \times 100$$

Where: n = Insect population, T = treated, Co = control

Statistical analysis of total plot yield and 1 m² area yield was conducted using SigmaPlot 15 software, applying the Student-Newman-Keuls method of one-way ANOVA followed by All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test) and Anova Repeated Measurement test.

Results

A greenhouse experiment resulted on eggplant for a control of tobacco thrips using the following treatments was evaluated. Mean mortality rates across three years (2017–2019) are shown in Table 1.

In terms of treatment effect, variant B demonstrated significantly greater effectiveness than the other treatments across all time points, particularly during the 5–15 days post-application period. In contrast, variant A exhibited significantly lower effectiveness during the initial phase; however, it

maintained stable control thereafter. Variants C and D showed comparable efficacy, although neither surpassed variant B in overall performance.

Observations of thrips populations across treatment plots revealed distinct differences in pest suppression among the tested variants. In Treatment A, the thrips population followed a clear polynomial decline ($R^2 = 0.99$; Figure 3) relative to pre-treatment levels. The average number of pests per 100 leaves decreased from 448.7 before application to 291.0 within 24

hours, continuing to drop sharply thereafter. The population later stabilized, indicating that *A. swirskii* effectively suppressed and maintained control of the thrips population (Figure 3A).

Treatment B, which combined *A. swirskii* with Neem oil, achieved the most rapid and sustained suppression among all variants. This integrated approach provided the highest control efficiency and demonstrated a synergistic interaction

Table 1. Effect of treatment used for controlling tobacco thrips in eggplant plantings

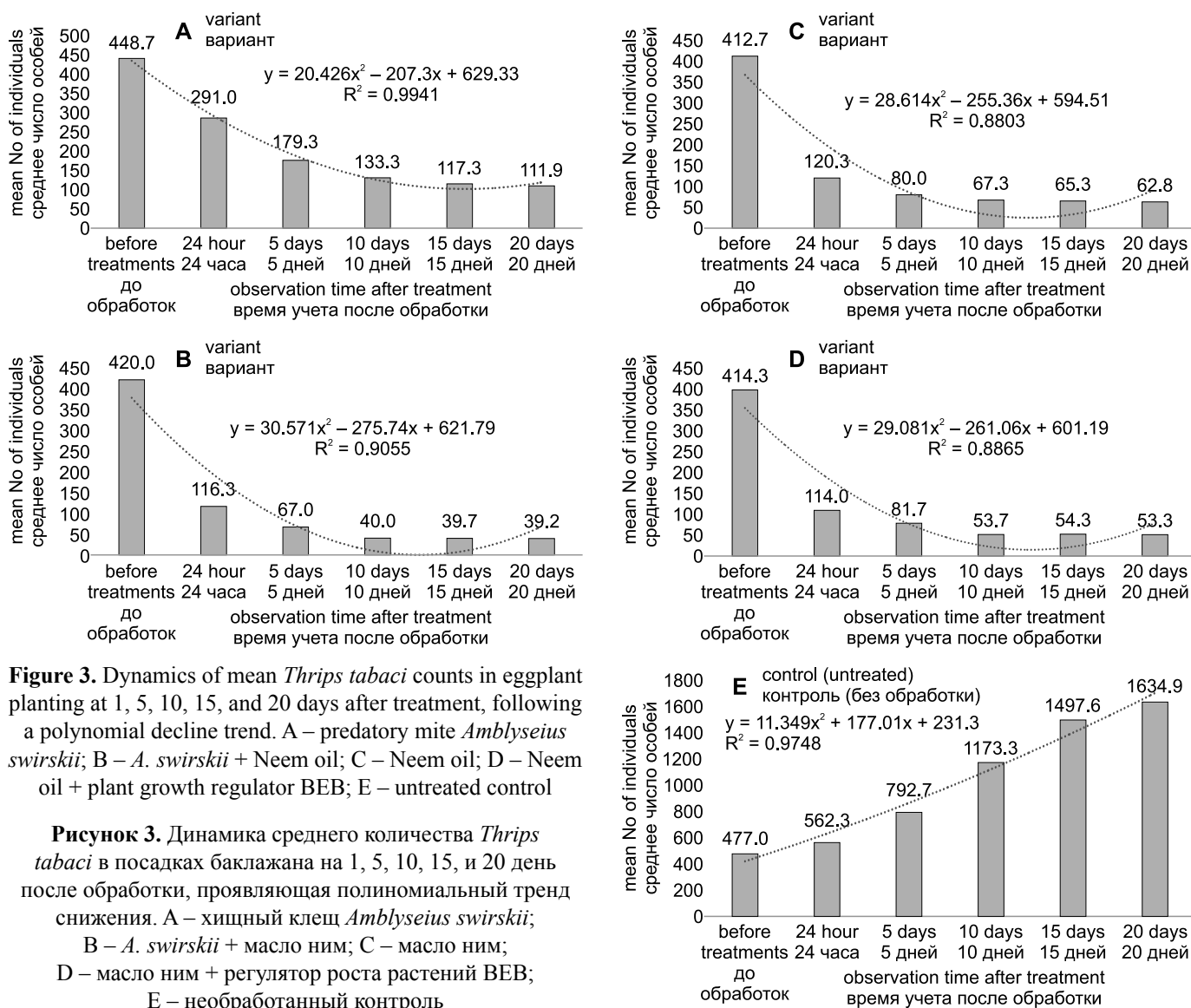
Variants	Mortality rate (%±SE) in average 2017–2019				
	24h	5 days	10 days	15 days	20 days
A (<i>A. swirskii</i>)	*44.98±24.1	75.95±0.9	*87.92±2.7	*91.67±1.7	*92.72±5.0
B (<i>A. swirskii</i> + Neem oil)	76.51±5.5	90.40±2.1	96.13±0.6	96.99±1.1	97.28±0.2
C (Neem oil)	75.27±4.7	88.34±3.6	93.36±1.5	94.96±0.3	95.56±1.2
D (Neem oil + BEB)	76.66±1.5	88.13±2.0	94.73±1.8	95.83±1.3	96.25±1.5

Remark: * indicates a significant difference between 24h group and the 10-, 15-, and 20-day groups within A treatment according to Anova RM analysis.

Таблица 1. Эффект обработки против табачного трипса в посадках баклажана

Варианты	Смертность (%±SE), усредненная за 2017–2019 гг.				
	24 часа	5 дней	10 дней	15 дней	20 дней
A (<i>A. swirskii</i>)	*44.98±24.1	75.95±0.9	*87.92±2.7	*91.67±1.7	*92.72±5.0
B (<i>A. swirskii</i> + масло ним)	76.51±5.5	90.40±2.1	96.13±0.6	96.99±1.1	97.28±0.2
C (масло ним)	75.27±4.7	88.34±3.6	93.36±1.5	94.96±0.3	95.56±1.2
D (масло ним + BEB)	76.66±1.5	88.13±2.0	94.73±1.8	95.83±1.3	96.25±1.5

Примечание: * обозначает существенное различие между эффектом через 24 часа и через 10, 15, 20 дней для варианта обработки А по результатам дисперсионного анализа.



between the biological and botanical agents, highlighting the potential of integrated biological–botanical management under greenhouse conditions (Figure 3B). In Treatment C (Neem oil), a steady polynomial reduction in thrips density was observed ($R^2 = 0.88$; Figure 3C). Although the level of suppression was lower than that of the integrated approach in Treatment B, Neem oil alone maintained a moderate and consistent reduction throughout the experimental period. Treatment D combined Neem oil with the plant growth regulator BEB, producing significant polynomial suppression ($R^2 = 0.98$; Figure 3D) while simultaneously promoting plant vigor, suggesting complementary benefits between pest control and host recovery. An untreated control (Treatment E) was included for comparison. Unlike the treated plots, the control exhibited a continuous increase in thrips population ($R^2 = 0.97$; Figure 3E), confirming the pest's capacity for rapid proliferation under greenhouse conditions in the absence of intervention.

To assess treatment effects on crop productivity, total yield and yield per square meter were compared with the control. The integrated approach in Treatment B produced the highest yield gains, demonstrating that effective pest suppression directly enhanced crop performance. The average yield per plot (24 m²) of the different treatment variants was calculated over a three-year period. The results showed that the A variant yielded 26.6 kg/m², the B variant 31.0 kg/m², the C variant 28.0 kg/m², the D variant 25.0 kg/m², and the E (control) variant 22.6 kg/m². When calculating the average fruit yield per square meter, the A variant produced 4.4 kg/m², the B variant 5.2 kg/m², the C variant 4.7 kg/m², the D variant 4.2 kg/m², and the E variant 3.8 kg/m². When evaluating the effectiveness of the control methods based on the yield per 1 sqm, all treatment variants produced 0.4–1.4 kg/m² higher yields compared to the untreated control. This indicates the effectiveness of the applied control methods. The efficacy of the control methods

was further evaluated based on yield data, analyzed using SigmaPlot 15 software. The total eggplant yield per treatment variant (A–E), averaged over three years (2017–2019) showed that variants B and C produced significantly higher yields than the untreated control (Fig. 4).

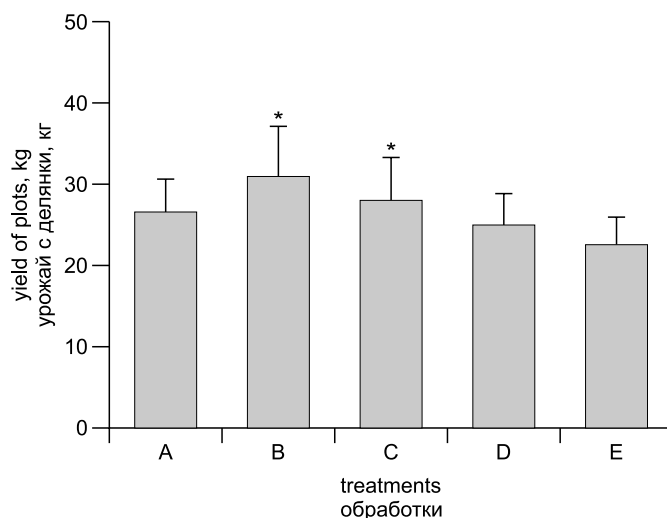


Figure 4. Total eggplant yield per treatment variant averaged over three years (2017–2019). Asterisks indicate significantly higher values compared to the untreated control (Tukey test, $p \leq 0.001$). – predatory mite *Amblyseius swirskii*; B – *A. swirskii* + Neem oil; C – Neem oil; D – Neem oil + plant growth regulator BEB; E – untreated control

Рисунок 4. Суммарный урожай баклажана в среднем за три года (2017–2019). Звездочками отмечены значения, достоверно отличающиеся от необработанного контроля (Tukey test, $p \leq 0.001$). А – хищный клещ *Amblyseius swirskii*; В – *A. swirskii* + масло ним; С – масло ним; D – масло ним + регулятор роста растений БЕВ; Е – необработанный контроль

Discussion

In Mongolia, eggplants are cultivated exclusively under greenhouse conditions. Among greenhouse pests, tobacco thrips cause particularly severe damage to crops. Within the Thripidae family, research has shown that the Western flower thrips *Frankliniella occidentalis* Pergande and the tobacco thrips are the most destructive species in European greenhouses (Riudavets, 1995). In Mongolia, researchers first identified *T. tabaci* infestations in 1978–1980 (Chuluunjav, Undarmaa, 2015). Historically, chemical insecticides have been used to control the tobacco thrips in greenhouse crops. However, due to food safety concerns, IPM approaches with emphasis on biological control have been increasingly adopted worldwide (Waterhouse, 1989). Predatory mites from the *Phytoseiidae* and *Anthocoridae* families have shown particular promise (Wimmer, 2008). European studies by Wimmer et al. demonstrated that *A. swirskii* can effectively control first-instar larvae of both thrips species, achieving 67–78% mortality. *Amblyseius swirskii* has proven to be a highly effective generalist predator for greenhouse pest management (Schausberger et al., 2018).

Notably, while combined use of *A. cucumeris* and *A. barkeri* against tobacco thrips showed limited efficacy due to interspecies competition, *A. cucumeris* alone demonstrated active predation and established populations for 9 weeks

post-release (Mouden, 2017). In addition, *A. swirskii* effectively controlled the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande), in the plots sprayed with pollen. Within 5 weeks after the introduction of the mite, the population density of *A. swirskii* reached up to three predatory mites (nymphs and adults) per leaf and they remained in high numbers on the leaves until the end of the study, even when the prey *F. occidentalis* was present in low numbers (Kutuk et al., 2011).

Our pioneering research in Mongolia evaluated *A. swirskii* (applied at 1:5 ratio) against tobacco thrips (*T. tabaci*) in greenhouse eggplants, achieving 86.3% population reduction (Undarmaa et al., 2015). We further demonstrated that *A. swirskii* can be effectively combined with botanical pesticides (Neem oil), and staggered application (5-day interval between Neem and mite release) optimizes efficacy. Collectively, these results demonstrate that integrating the predatory mite *A. swirskii* with Neem oil provides the most consistent and durable yield benefits. Treatments combining biological and botanical components not only suppressed thrips populations effectively but also improved crop performance, underscoring the potential of integrated pest-management strategies to enhance both pest control and greenhouse crop productivity.

These findings validate that organic eggplant production in Mongolia is achievable through biologically-based

IPM strategies compliant with organic farming standards (Undarmaa et al., 2015). Growing research attention is focused

on Neem, exploring the utility of its products as insecticides and antibiotics (Bielza, 2008; Benelli et al., 2016).

References

- Altantsetseg Z, Undarmaa D (2023) Molecular identification of thrips species infesting greenhouse vegetables including eggplant in the central agricultural region of Mongolia. *Bull Toraighyrov Univ (Chem Biol Ser)* 3:100–109.
- Benelli G, Canale A, Toniolo C, Higuchi A, et al. (2016) Neem (*Azadirachta indica*): towards the ideal insecticide? *Nat Prod Res* 31(4):369–386. <https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1214834>
- Bielza P (2008) Insecticide resistance management strategies against the western flower thrips *Frankliniella occidentalis*. *Pest Manag Sci* 64(11):1131–1138. <https://doi.org/10.1002/ps.1620>
- Campos EVR, de Oliveira JL, Pascoli M (2016) Neem oil and crop protection: From now to the future. *Front Plant Sci* 7:1494. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01494>
- Chogsomjav L, Shuravenkov BG (1965) Crop pests and diseases. Ulaanbaatar: State Publishing House, 90–92 p. (in Mongolian)
- Chuluunjav Ch, Undarmaa D (2015) Agricultural entomology. Ulaanbaatar: MULS Press, 230–233 p.
- Feng R, Isman MB (1995) Selection for resistance to azadirachtin in the green peach aphid *Myzus persicae*. *Experientia* 51(8):831–833. <https://doi.org/10.1007/BF01922444>
- Jambajants Ts (1983) Climate of Mongolia. Ulaanbaatar: State Publishing House. (in Mongolian)
- Kutuk H, Yigit A, Canhilal R, Karacaoglu M (2011) Control of western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*) with *Amblyseius swirskii* on greenhouse pepper in heated and unheated plastic tunnels in the Mediterranean region of Turkey. *Afr J Agric Res* 6(24):5428–5433.
- Langfang Weijin Agricultural Technology Co., Ltd. (n.d.) Plant Cell Energy Factor (BEB). Available at: <https://www.beb-wj.com>
- Lewis T (1997) Thrips as Crop Pests. Wallingford: CABI Publishing.
- Loredo RCFJ (2022) Host plant association and distribution of the onion thrips *Thrips tabaci* cryptic species complex. *Insects* 13(3):298. <https://doi.org/10.3390/insects13030298>
- MacIntyre Allen JK, Scott-Dupree CD, Tolman JH, Harris CR (2005) Resistance of *Thrips tabaci* to pyrethroid and organophosphate insecticides in Ontario, Canada. *Pest Manag Sci* 60(8):809–815. <https://doi.org/10.1002/ps.1068>
- Mehle N, Trdan S (2012) Traditional and modern methods for the identification of thrips (*Thysanoptera*) species. *J Pest Sci* 85:179–190. <https://doi.org/10.1007/s10340-012-0423-4>
- Mouden S, Sarmiento KF, Klinkhamer PGL, Leiss KA (2017) Integrated pest management of *Thrips tabaci* in organic greenhouse crops: efficacy of different natural enemies and biopesticides. *Biol Control* 110:85–96. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.04.008>
- Mound LA, Kibby G (1998) Thysanoptera: An Identification Guide. Wallingford: CABI Publishing.
- Riudavets J (1995) Predators of *Frankliniella occidentalis* (Perg.) and *Thrips tabaci* Lind.: a review. *Wageningen Agric Univ Pap* 95(1):43–87.
- Riley DG, Joseph SV, Srinivasan R, Diffie S (2011) Thrips vectors of tospoviruses. *Integr Pest Manag* 2(1):1–10. <https://doi.org/10.1603/IPM10020>
- Schausberger P, Davaasambuu U, Saussure S, Christiansen IC (2018) Categorizing experience-based foraging plasticity in mites: age dependency, primacy effects and memory persistence. *R Soc Open Sci* 5:172110. <https://doi.org/10.1098/rsos.172110>
- Undarmaa D, Altantsetseg Z, Siiriimaa A. (2015) Integrated pest management trial on cucumber production in greenhouse. Agroecology, Proc Int Conf “Natural Resource Conservation and Agriculture” 1(9, special issue):130–140.
- Waterhouse DF (1989) Biological Control: Pacific Prospects. Canberra: ACIAR, 11 p.
- Wimmer D, Schausberger P, Walzer A, et al. (2008) Prey suitability of western flower thrips *Frankliniella occidentalis* and onion thrips *Thrips tabaci* for the predatory mite *Amblyseius swirskii*. *Biocontrol Sci Technol* 18(6):533–542. <https://doi.org/10.1080/09583150802029784>
- Yaşarakıncı NH, Aydınli F, Yildiz E, et al. (2000) Studies on the pests, their natural enemies, and population developments on protected eggplant in İzmir province. *Bitki Koruma Bülteni* 40(1):29–48. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/bitkorb/issue/3665/48687>
- Yan Lan Xie LAM, Lima EFB, Shu Qi He, Hong Rui Zhang, et al. (2022) Molecular studies of relationships and identifications among insects of the subfamily Panchaetothripinae (Thysanoptera: Thripidae). *Insect Sci* 29(5):1202–1216. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12952>

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНТЕГРИРОВАННЫХ МЕТОДОВ ДЛЯ БОРЬБЫ С ТАБАЧНЫМ ТРИПСОМ *THRIPS TABACI* НА БАКЛАЖАНЕ В УСЛОВИЯХ ЗАЩИЩЕННОГО ГРУНТАД. Ундармаа^{1*}, А. Сийриймаа², З. Алтанцэцэг^{1,3}¹ Факультет Агроэкологий, Монгольский Университет Наук о Жизни, Зайсан, Улан-Батор, Монголия² Институт защиты растений, Зайсан, Улан-Батор, Монголия³ Университет пищевой промышленности и технологий, Улан-Батор, Монголия

*ответственный за переписку, e-mail: undarmaa@mul.s.edu.mn

Табачный трипс *Thrips tabaci* – сельскохозяйственный вредитель, широко распространённый во всем мире, в том числе в теплицах Монголии. Цель данного исследования заключалась в оценке эффективности хищных клещей и средств растительного происхождения в регулировании численности табачного трипса в посадках баклажана. Эксперимент проводился в теплице площадью 120 м² на базе исследовательского центра «Агропарк» Монгольского университета наук о жизни. Было испытано четыре варианта обработки заражённых участков баклажана: а) хищный клещ *Amblyseius swirskii*; б) *A. swirskii* в комбинации с маслом ним; в) масло ним; г) масло ним в сочетании с биостимулятором ВЕВ (на основе экстракта гриба *Ganoderma lucidum*). Средние показатели смертности табачного трипса за три года варьировали от 45 % до 93 % при использовании *A. swirskii*, от 77 % до 97 % при сочетании *A. swirskii* и масла ним, от 75 % до 96 % при применении только масла ним и от 77 % до 96 % при сочетании масла ним с ВЕВ. Все варианты показали высокую эффективность в виде значительном снижении численности трипсов в условиях теплицы. Для обеспечения эффективности биологического контроля важно выпускать хищных клещей не ранее, чем через пять дней после применения растительных препаратов, таких как масло нима. На основании полученных результатов рекомендуется использовать *A. swirskii* как самостоятельно, так и в комбинации с растительными препаратами в качестве безопасного и эффективного средства защиты растений от табачного трипса при выращивании баклажанов в тепличных условиях.

Ключевые слова: интегрированная защита растений, хищный клещ, *Amblyseius swirskii*, растительный инсектицид, регулятор роста растений

Поступила в редакцию: 30.03.2025

Принята к печати: 27.07.2025

MONITORING OF OKRA YELLOW VEIN MOSAIC VIRUS IN THE SARGODHA DIVISION, PAKISTAN

M.A. Shabbir†, M. Mubeen†, Y. Iftikhar*, M.A. Zeshan, A. Sajid

Department of Plant Pathology, College of Agriculture, University of Sargodha, Sargodha, Pakistan

*corresponding author, e-mail: yasir.iftikhar@uos.edu.pk

†Authors with equal contribution

Okra Yellow Vein Mosaic Virus (OYVMV) is an important and significant threat to okra production, causing great yield losses in tropical and subtropical regions. The distribution and prevalence of OYVMV infection were estimated in the okra fields of Punjab, Pakistan, during 2020 and 2021. Surveys were conducted across Sargodha division (Sardogha, Khushab, Mianwali, and Bhakkar districts) to collect symptomatic and asymptomatic leaf samples. The presence of OYVMV was confirmed through PCR using specific primers. Disease incidence and severity were calculated using established formulas and rating scales. Significant differences were found in the incidence and severity of OYVMV infection among the districts and crop varieties. In 2020, Sargodha had the highest incidence and severity (80% and 52%), followed by Mianwali and Khushab, while in Bhakkar, the lowest incidence and severity were recorded (70% and 47%). In 2021, Mianwali showed the highest incidence and severity (73% and 47%), followed by Bhakkar and Khushab with Sargodha showing the least values for both parameters (69% and 44%). Among the varieties, Sultan-121 displayed the highest incidence and severity of the disease, while Sabz Pari had the lowest indices. Heat maps were utilized to visualize spatial variations in the incidence and severity of the virus infection. These findings highlight the widespread presence of OYVMV in Sargodha division and determine a baseline for future control and management strategies intended to mitigate the OYVMV-incurred losses in okra production.

Keywords: OYVMV, plant disease, incidence, severity, Sargodha, Khushab, Mianwali, Bhakkar

Submitted: 17.05.2025

Accepted: 10.07.2025

Introduction

Okra crop is threatened by many fungal, bacterial and viral diseases, such as damping off (Matny 2013), leaf spot disease (Arain et al., 2012), powdery mildew (Gogoi et al., 2013) and Okra Yellow Vein Mosaic Virus (OYVMV) (Kumar and Vashisth 2024). The latter is the major disease in okra fields, being one of the main yield hindrances in okra production. OYVMV is a systemic pathogen, broadly transmitted by the whitefly *Bemisia tabaci* vector as a considerable threat to okra cultivation in the tropical and subtropical regions (Davis, Thompson 2024). OYVMV infects plants belonging to several species in the genus *Abelmoschus* and brings severe havoc into okra fields (Akinyele, Osekita 2006). Viral diseases like OYVMV have become a serious challenge in the agricultural scenario of South Asia and Africa, contributing to huge losses (Jamir et al., 2020). It causes symptoms like vein yellowing, stunted growth and a reduction in fruit yield, which may lead to total crop failure if management practices

are not employed in a timely manner. Unlike many other plant viruses, the molecular diagnostics for OYVMV are more developed and PCR-based techniques have been effective in detecting the virus even in asymptomatic plants (Shabbir et al., 2025). Virus-induced damage reported in okra plants of several divisions in Pakistan and India was associated with the whitefly transmission (Mubeen et al., 2017). Other means of disease dispersal is grafting. The infection finally turns symptomatic with observations like yellowing of veins, leaf curling, and stunting. It severely affects okra pod quality and quantity (Shwetha et al., 2024). Research focused on OYVMV infection in major okra-growing regions, but it remained noticeably deficient in Pakistan (Ali et al., 2012). Hence, this study targets monitoring the incidence and spread of OYVMV in okra fields within important growing divisions of Pakistan, and as such, aims at developing a baseline for future control and management strategies.

Materials and Methods

A survey was carried out to collect leaf samples in okra growing areas of division Sargodha, viz. Sargodha, Bhakkar, Mianwali and Khushab between 2020 and 2021. Leaf samples were collected from infected okra fields in all areas. Areas selected for monitoring and sample collection were Musakhel, Rokhri, Chasma and Harnoli in Mianwali, Duellawala, Goharwala, Jhok Mehar Shah and Kotla Jam in Bhakkar, Jauharabad, Mitha Tiwana, Padhrar and Naushehra in

Khushab along with Chak 104 SB, Chak 128 SB, Chak 136 SB and Sial Sharif in Sargodha district. Samples were randomly collected from symptomatic and asymptomatic plants from okra fields (Fig. 1). Infected samples were diagnosed based on OYVMV symptoms (Fig. 2A, B, C, D): yellowing of veins, leaf curling, stunted growth and reduced fruit yield. Infected fruits are yellow, fibrous, small and tough (Chaudhary et al., 2017). These symptoms can be associated with significant

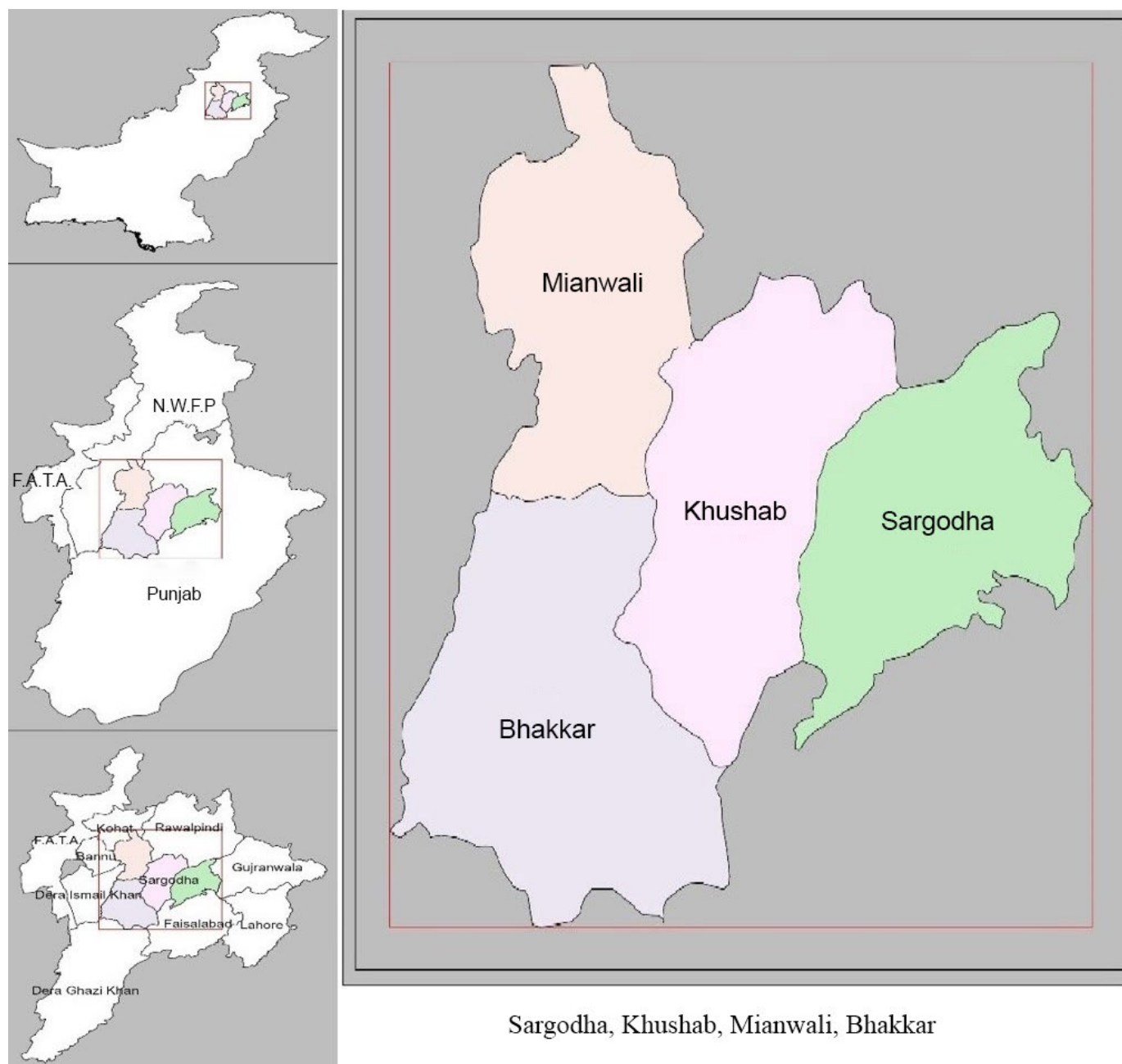


Figure 1. Map of the districts under study

Рисунок 1. Карта районов в исследовании

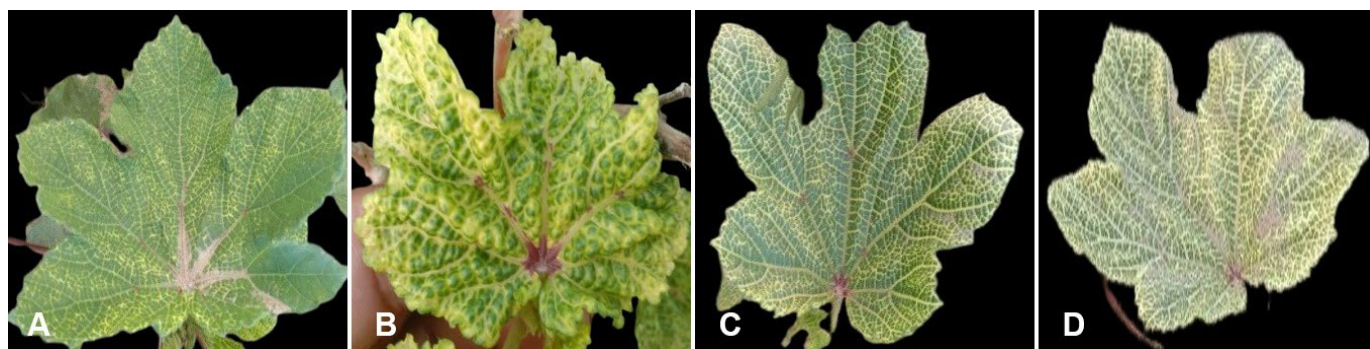


Figure 2. Okra Yellow Vein Mosaic Virus infection symptoms on okra plants

Рисунок 2. Симптом заражения растений баклажана вирусом жёлтой жилковой мозаики баклажана

yield losses if not managed effectively (Mubeen et al., 2021). The severity of virus infection (Mubeen et al., 2017) was based on a visible manifestation of symptoms by the plants

during the sample collection. Hot spots were marked for future investigation. The incidence of viral infection in okra plants was calculated based on positive samples confirmed through

polymerase chain reaction (PCR). Five leaf samples for each variety were subjected to PCR and the formula is mentioned as follows:

$$\text{Disease Incidence (\%)} = \frac{\text{Number of Diseased Plants}}{\text{Total number of Plants Examined}} \times 100$$

(Mubeen et al., 2017)

The severity of OYVMV infection was recorded as described by Mubeen et al. (2017) and disease rating scale is given in Table 1. The DSI was calculated according to the formula given by McKinney (1923).

$$\text{Disease Severity Index} = \frac{\text{Severity Scale} \times \text{Number of Diseased Plants}}{6 \times \text{Total number of Plants Examined}} \times 100$$

Disease incidence and severity data were collected for the years 2020 and 2021 and analyzed using R programming language (version 4.4.3). Data were imported from Microsoft Excel files using the readxl package and pre-processed using

dplyr. The mean incidence or severity was calculated as the arithmetic average while the standard error was determined as the standard deviation divided by the square root of the sample size. Visualizations were generated using the ggplot2 and cowplot packages. Bubble maps were created for each variety in both years, where circle sizes represented the magnitude of disease incidence or severity and color gradients were used to denote intensity levels. The heat map technique was utilized to illustrate the combined effect of different varieties. A heat map is defined as the 2-dimensional data visualization technique which is used to represent the intensity of individual values within a dataset as a color. The variation of value is as the color intensity. Blue, grey, green, yellow and red colors of different intensity show the values of severity which are being exploited for comparison in different locations over two years, as well as for different locations within a year.

Table 1. Severity rating scale of Okra Yellow Vein Mosaic Virus infection

Rating scale	Severity, %	Symptoms	Remarks
0	0	No symptoms	Immune
1	Up to 10	Few scattered lesions only	Highly resistant
2	11–25	Visible lesions	Moderately resistant
3	26–50	Visible lesions without stem girdling	Tolerant
4	51–60	Lesions with stem girdling	Moderately susceptible
5	61–70	Early vein yellowing with mosaic pattern	Susceptible
6	71–100	Vein yellowing with mosaic pattern and stem girdling	Highly susceptible

Таблица 1. Шкала оценки пораженности вирусом желтой жилковой мозаики баклажана

Балльная шкала	Степень поражения, %	Симптомы	Примечания
0	0	Нет симптомов	Невосприимчивый
1	до 10	Одиночные разрозненные поражения	Высокоустойчивый
2	11–25	Заметные поражения	Среднеустойчивый
3	26–50	Поражения без опоясывания черешка	Толерантный
4	51–60	Поражения с опоясыванием стебля	Среднечувствительный
5	61–70	Начало пожелтения жилок с мозаичным распределением	Чувствительный
6	71–100	Пожелтение жилок с мозаичным распределением и опоясыванием черешка	Высокочувствительный

Results

The data was transformed to analyze the incidence and disease severity statistically. PCR showed that the incidence was significantly different in all the districts of Sargodha division. Among the four varieties, disease incidence (Fig. 3A, B) and severity (Fig. 4A, B) significantly differed. The disease incidence and severity scores were high in Sultan-121 with mean values of 83.94% and 55.23%, respectively, followed by BS728 (78.88%, 51.62%) and Ujala (76.56%, 51.43%). The least disease incidence and severity were recorded in Sabz Pari with mean values of 66.56% and 41.52%, respectively in 2020. In 2021, the highest values were found in Sultan-121 with mean values of 81.81% and 41.52% respectively, followed by BS728 (72.18%, 47.95%) and Ujala (67.00%, 42.54%). The disease incidence and severity were found lowest in Sabz Pari, with mean values of 61.18% and 36.72%, respectively. During 2020, the highest incidence was recorded in Sargodha, with a value of 80.06%, followed by Mianwali (79.69%) and Khushab (75.75%). The lowest incidence was recorded in Bhakkar (70.44%) (Fig. 4), While in 2021, the highest incidence was recorded in Mianwali, with a value of 72.88%, followed by Bhakkar (71.00%). The least was recorded in Khushab

(69.19%), at par with Sargodha (69.06%). The same trend was found in disease severity. During 2020, the highest severity (DS) was recorded in Sargodha with the value of 52.02% followed by Mianwali (51.07%) and Khushab (49.85%) and the least severity was recorded in Bhakkar (46.85%) while in 2021 the highest Severity was detected in Mianwali with the value of 47.26% followed by Bhakkar (47.02%), Khushab (44.93%) and least was observed in Sargodha (44.04%). There was a difference in disease incidence and severity among the same areas and varieties for two years which might be due to environmental conditions, agronomic practices and insect vectors. For example, Duellwala displayed red- and yellow-colored severity bubbles for Sultan-121 in 2020 and 2021, respectively; i.e. the severity was reduced. Heat map analysis for same year showed that the severity was higher in Duellwala than in Harnoli. Jhok Mehar Shah exhibited high severity (over 90%) for the Sultan-121 in both years, being slightly less intense red in 2020, which became dark red in the next year. Heat maps of the incidence (Fig. 5) of different varieties and heat maps of varying severity (Fig. 6) of varieties are given in this chapter for a clear picture of the situation.

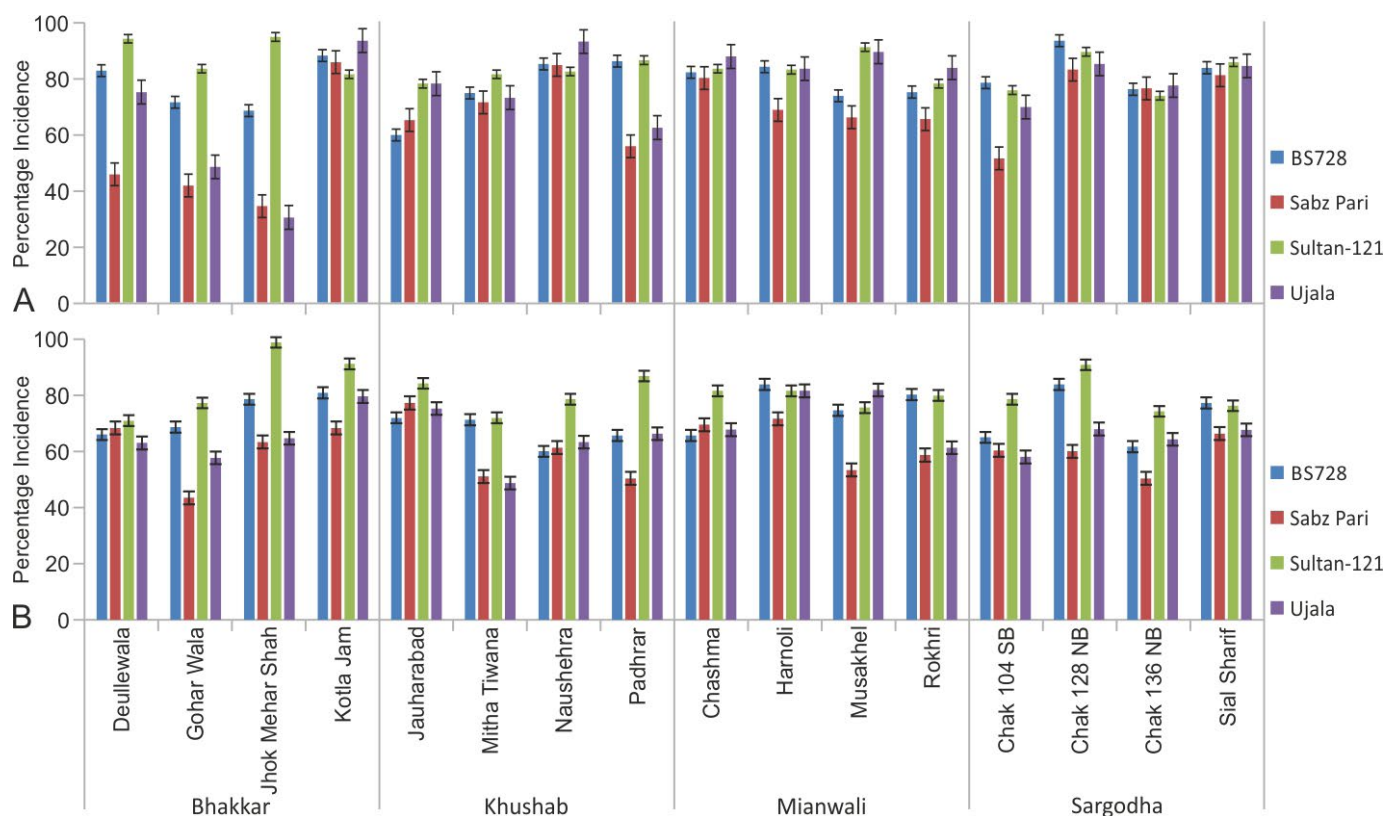


Figure 3. Okra yellow vein mosaic virus incidence in different varieties across districts of Sardogha division in 2020 (A) and 2021 (B)

Рисунок 3. Распространенность вируса жёлтой жилковой мозаики бамии на разных сортах среди районов округа Сардогха в 2020 (A) и 2021 гг. (B)

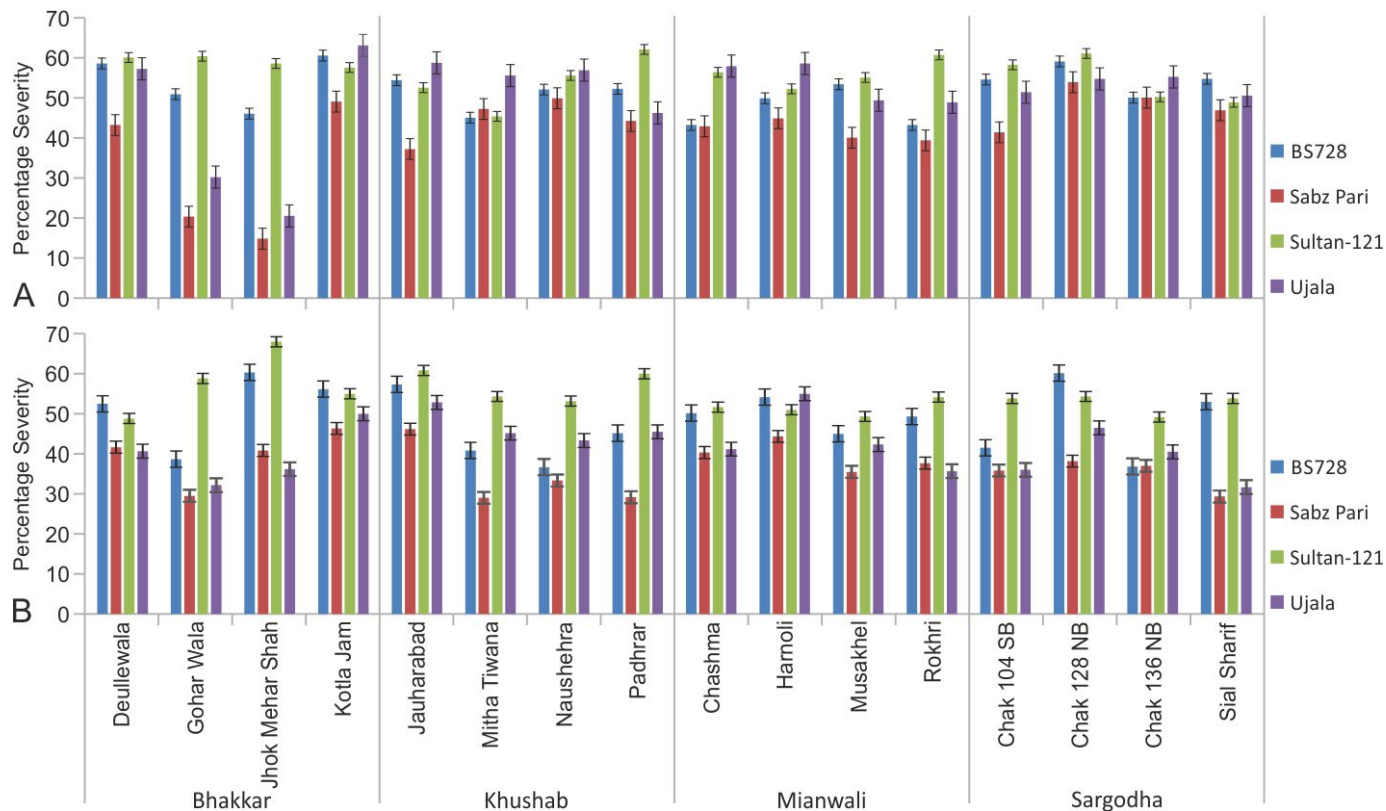


Figure 4. Okra yellow vein mosaic virus-induced disease severity of different varieties grouped by districts of Sardogha division in 2020 (A) and 2021 (B)

Рисунок 4. Степень поражения разных сортов, сгруппированных по районам округа Сардогха в 2020 (A) и 2021 гг. (B), вирусом жёлтой жилковой мозаики бамии

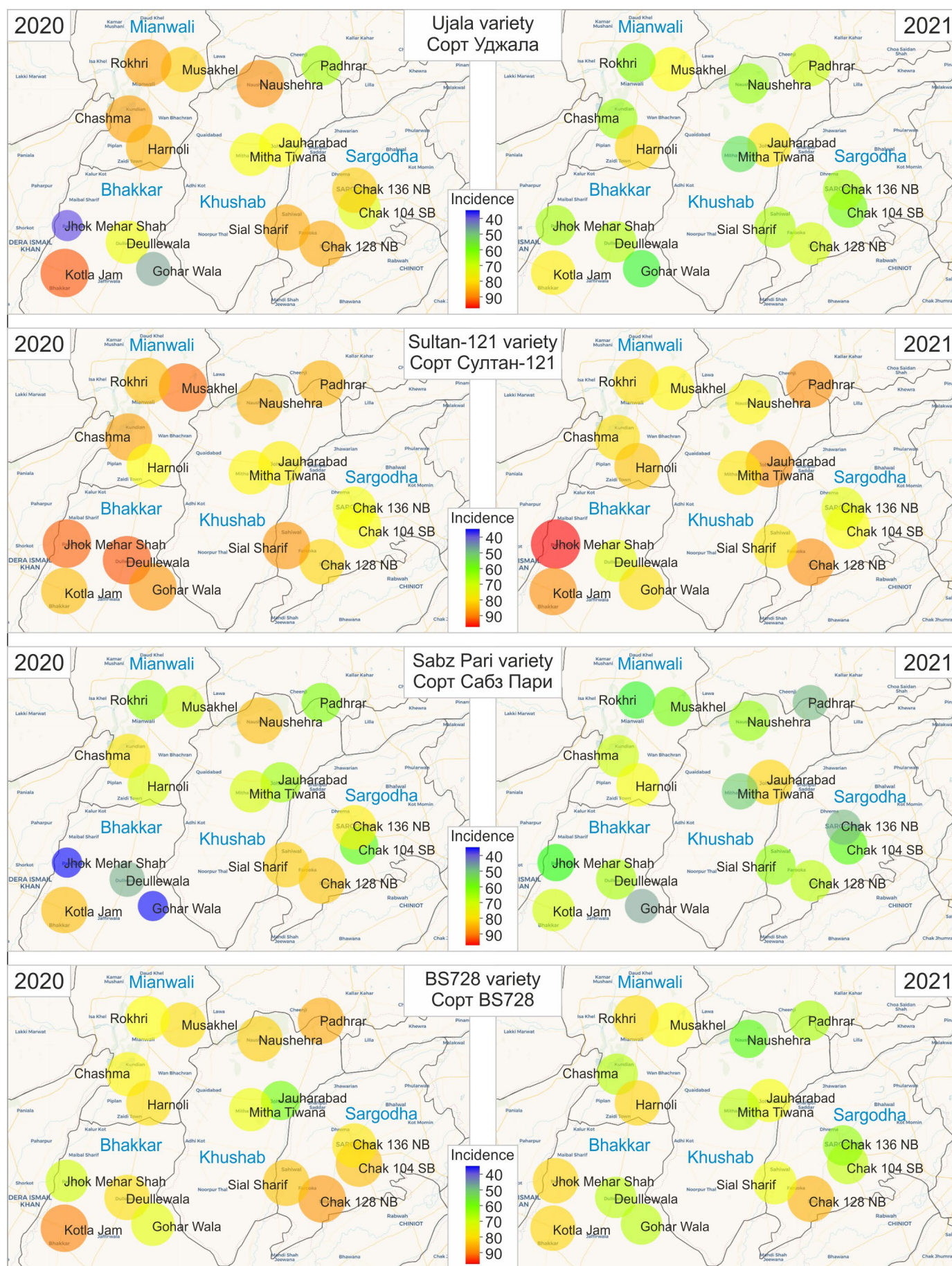


Figure 5. Okra yellow vein mosaic virus incidence heat maps of different varieties in 2020 and 2021
Рисунок 5. Тепловые карты распространности вируса жёлтой жилковой мозаики бамии на разных сортах в 2020 и 2021 гг.

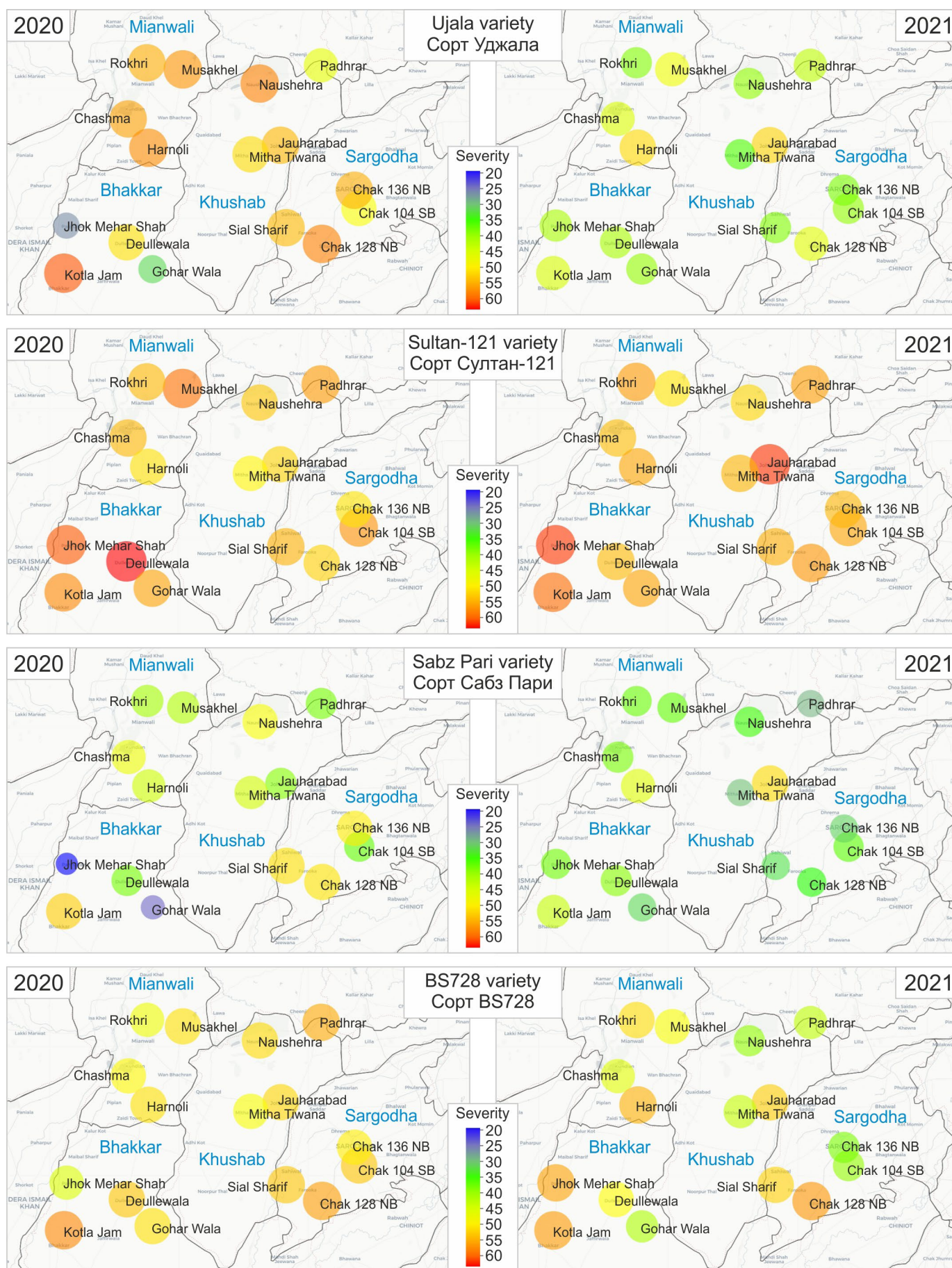


Figure 6. Okra yellow vein mosaic virus-induced disease severity heat map of different varieties in 2020 and 2021

Рисунок 6. Тепловая карта степени поражения разных сортов вирусом жёлтой жилковой мозаики бамии в 2020 и 2021 гг.

Discussion

The data analysis revealed the prevalence of infection across all okra-growing regions of the Sargodha division in Punjab, Pakistan. While virus detection based on symptomatology is often unreliable and time-consuming (Ali et al., 2005), as it depends on the visible manifestation of symptoms in indicator plants, PCR offers a more practical, sensitive and effective detection method using specific primer pairs (Senevirathna et al., 2016). This study was the continuation of a previous study by the authors where OYVMV-infected samples showed the desired amplification levels when subjected to PCR. Our results confirmed the presence of virus in the infected samples in the previous study by Shabbir et al. (2025). The present study on OYVMV's distribution across okra-growing areas agreed with the already published data. Similar survey had also been carried out in Bangladesh and PCR was applied to show the presence of the virus OYVMV (Hossain et al., 2023). Subsequently, OYVMV was discovered globally as an important pathogen of the okra crop. It was first discovered

in the USA in 2010 (Hernandez-Zepeda et al., 2010), though Venkataravanappa et al. (2015) detailed its genomic features, with DNA A encoding 5–7 proteins and DNA B encoding two proteins, providing a total survey of virus sizes ranging from 2.5 to 2.8 kbp (Shuja et al., 2022). It was recorded for the first time in Sri Lanka by Tharmila et al. (2017) and later reported in Thailand by Tsai et al. (2013). OYVMV was detected in 17 of 18 okra genotypes in PCR analysis and resistance was shown by one genotype (Shabbir 2025). Recent research also covers the study conducted by Tharmila et al. (2017), which described a qPCR methodology used in the detection and quantification of beta satellites linked to OYVMV. Furthermore, several studies considered PCR as a significant method to indicate the presence of OYVMV in okra plants. Mondal et al. (2015) also studied image processing techniques to detect and classify the presence of yellow vein mosaic virus in okra leaves, thereby solidifying PCR's reliability as a successful detection method.

Conclusions

Our study concludes that OYVMV is widely distributed across all the okra-growing areas in the Sargodha Division, Punjab. The virus has a significant impact on various okra varieties with notable differences in incidence and severity between districts and cultivars. Sultan-121 showed the highest disease incidence and severity and highlighted its vulnerability to the virus. The successful detection of OYVMV through PCR-based methods proved to be a reliable and sensitive approach which enabled the identification of infected plants including those with no visible symptoms. This underscores the importance of early and precise detection in managing the

disease. Regular monitoring coupled with PCR diagnostics is essential for effective disease management and early intervention especially in the areas where virus prevalence is high. The development of resistant varieties, integrated pest management strategies targeting whitefly vectors and timely interventions could help mitigate the impact of OYVMV on okra crops. Future research should focus on assessing the long-term impact of OYVMV on okra productivity and exploring potential control measures. Overall, this study provides a foundation for future efforts aimed at controlling OYVMV and ensuring the sustainability of okra cultivation in Pakistan.

Acknowledgements

Checking English grammar and style was the courtesy of Ken Smith, Master in TESOL (Santo Domingo, Dominican Republic).

References

- Akinyele BO, Osekita OS (2006) Correlation and path coefficient analyses of seed yield attributes in okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench). *Afr J Biotechnol* 5:1330–1336
- Ali MI, Khan MA, Rashid A, Javed MT, Sajid M (2012) Epidemiology of Okra Yellow Vein Mosaic Virus (OYVMV) and its management through tracer, mycotal and imidacloprid. *Am J Plant Sci* 3:2122–2126
- Ali S, Khan MA, Habib A, Rasheed S, Iftikhar Y (2005) Correlation of environmental conditions with okra yellow vein mosaic virus and *Bemisia tabaci* population density. *Int J Agri Biol* 7:142–144
- Arain AR, Jiskani MM, Wagan KH, Khuhro SN, Khaskheli MI (2012) Incidence and chemical control of okra leaf spot disease. *Pak J Bot* 44:1769–1774
- Chaudhary A, Khan MA, Bilal Y (2017) Management of okra yellow vein mosaic virus and its vector through plant extracts. *J Plant Pathol Microbiol* 8:393
- Wilbur DT, Thompson AN (2024) Begomoviruses associated with okra yellow vein mosaic disease (OYVMD): diversity, transmission mechanism, and management strategies. *Mol Horti* 4:36
- Gogoi R, Singh PK, Kumar R, Nair KK, Alam I, Srivastava C, Yadav S, Gopal M, Choudhury SR, Goswami A (2013) Suitability of nano-sulphur for biorational management of powdery mildew of okra (*Abelmoschus esculentus* Moench) caused by *Erysiphe cichoracearum*. *J Plant Pathol Microbiol* 4:171–175
- Hernandez-Zepeda C, Isakeit T, Scott Jr A, Brown JK (2010) First report of Okra yellow mosaic Mexico virus in okra in the United States. *Plant Dis* 94:924
- Hossain MA, Hossen MS, Nasib MAO, Hossain MT, Karim MR (2023) Field survey and molecular characterization of a bipartite begomovirus causing okra yellow vein mosaic virus disease in the Rajshahi region of Bangladesh. *Indian Phytopathol* 76:1063–1072
- Jamir I, Mandal AK, Devi AP, Bhattacharjee T, Maurya PK, Dutta S, Chattopadhyay A, Pramanik K, Banik S. (2020) Screening of genotypes against viral diseases and assessment of yield loss due to yellow vein mosaic virus in okra grown in the eastern part of India. *Indian Phytopathol* 73:125–133
- Kumar Y, Vashisth L (2024) Study on Yellow Vein Mosaic Virus of Okra and Management. *Viral Diseases of Vegetable & Fruit Crops* 33:151
- Matny ON (2013) First report of damping-off of okra caused by *Phytophthora nicotianae* in Iraq. *Plant Dis* 97:558–558

- McKinney HH (1923) Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. *J Agric Res* 26(5):195–217
- Mubeen M, Iftikhar Y, Abbas A, Abbas M, Zafar-ul-Hye M, Sajid A, Bakhtawar F (2021) Yellow Vein Mosaic Disease in Okra (*Abelmoschus esculentus* L.): An Overview on Causal Agent, Vector and Management. *Phyton* 90:1573
- Mubeen M, Iftikhar Y, Ullah MI, Shakeel Q, Aatif M, Bilqees I (2017) Incidence of Okra Yellow Vein Mosaic disease in relation to insect vector and environmental factors. *Environ Ecol* 35:2215–2220
- Shabbir MA, Iftikhar Y, Zeshan MA, Mubeen M, Shafique T, Ambreen K, Sajid A (2025) Molecular and Biological Characterization of Okra Yellow Vein Mosaic Virus in the Punjab, Pakistan. *Int J Agric Biol* 34(04).
- Shabbir MA, Iftikhar Y, Mubeen M, Zeshan MA, Jun Y, Almutairi LA, Ahmed AE (2025) Effect of Okra Yellow Vein Mosaic Disease on Biochemical Components of Okra Plants. *Pak J Agri Sci* 62(2):291–299.
- Senevirathna HMSI, Wasala SK, Senanayake DMJB, Weerasekara D, Wickamasinghe HAM, Deepal PKGA (2016) Characterization and detection of yellow vein disease of okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench) in Sri Lanka. *Trop Agric Res* 27:360–369
- Shuja MN, Riaz H, Ali M, Qasim M, Anees M, Winter S, Hassan S, Hassan MM, Elsharkawy MM (2022) Molecular characterization and identification of bhendi yellow vein mosaic virus with satellite DNAs infecting okra plants of district Mardan, Pakistan. *Egypt J Biol Pest Cont* 32:49
- Shwetha A, Gunnaiah R, Basavaraja N, Krishna KA, Kumar HRU, Sameer S (2024) Discovery of an SSR marker linked to Yellow Vein Mosaic Virus resistance in Okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench). *Genet Resour Crop Evol* 71:2573–2584
- Tharmila CJ, Jeyaseelan EC, Ihsan U, Wetten AC, De Costa DM, Shaw MW (2017) First report on association of okra yellow vein mosaic virus with yellow vein mosaic disease of okra (*Abelmoschus esculentus*) in Sri Lanka. *Plant Dis* 101:1335
- Tsai WS, Shih SL, Lee LM, Wang JT, Duangsong U, Kenyon L (2013) First Report of Bhendi yellow vein mosaic virus associated with yellow vein mosaic of Okra (*Abelmoschus esculentus*) in Thailand. *Plant Dis* 97:291
- Venkataravanappa V, Prasanna HC, Reddy CNL, Reddy MK (2015) Evidence for two predominant viral lineages, recombination and subpopulation structure in begomoviruses associated with yellow vein mosaic disease of okra in India. *Plant Pathol* 64:508–518

Вестник защиты растений, 2025, 108(3), с. 182–189

OECD+WoS: 1.06+QU (Microbiology); 4.01+AM (Agronomy)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2025-108-3-17058>

Полнотекстовая статья

МОНИТОРИНГ ВИРУСА ЖЁЛТОЙ ЖИЛКОВОЙ МОЗАИКИ БАМИИ В ОКРУГЕ САРДОГХА, ПАКИСТАН

М.А. Шаббир†, М. Мубин†, Я. Ифтихар*, М.А. Зешан, А. Саджид

Отдел фитопатологии, Колледж сельского хозяйства, Университет Саргодхы, Саргодха, Пакистан

*ответственный за переписку, e-mail: yasir.iftikhar@uos.edu.pk

†Авторы с равнозначным вкладом

Вирус жёлтой жилковой мозаики бамии (OYVMV) – важная и значительная угроза производства бамии, вызывающая огромные потери урожая в тропических и субтропических регионах. Распространённость OYVMV оценивалась на полях бамии в Пунджабе, Пакистан, в 2020 и 2021 гг. Обследования проведены в районах Сардогха, Хушаб, Мианвали и Бхаккар округа Сардогха для сбора образцов листьев с симптомами и без них. Присутствие OYVMV подтверждено с помощью ПЦР с видоспецифичными праймерами. Распространённость болезни и степень поражения растений рассчитывалась с помощью общепринятых формул и балльных оценок. Выявлены существенные различия этих показателей при сравнении разных районов и сортов. В 2020 году наибольшие значения распространённости болезни и степени поражения растений (80 и 52 %) наблюдались в районе Сардогха; затем следовали Мианвали и Хушаб, а в районе Бхаккар были наименьшие показатели (70 и 47%). В 2021 году максимальные значения отмечены в Мианвали (73 и 47%), минимальные – в Сардогхе (69 и 44%). Среди проанализированных сортов, Султан-121 продемонстрировал наиболее высокие значения распространённости болезни и степени поражения растений, а Сабз Пари – наиболее низкие. «Тепловые карты» использованы для визуализации пространственного варьирования распространённости вирусной инфекции и степени поражения растений. Эти результаты подчеркивают широкую встречаемость OYVMV в округе Сардогха и задают отправную точку для последующей разработки стратегий борьбы, направленных на снижение потерь производства бамии, связанных с заражением OYVMV.

Ключевые слова: OYVMV, болезни растений, встречаемость, степень поражения растений, Саргодха, Хушаб, Мианвали, Бхаккар

Поступила в редакцию: 17.05.2025

Принята к печати: 10.07.2025

ПОВРЕЖДЕННОСТЬ ЗЕРНА ОЗИМОЙ ТРИТИКАЛЕ РАСТИТЕЛЬНОЯДНЫМИ КЛОПАМИ В ЛЕНИНГРАДСКОЙ ОБЛАСТИ

А.М. Шпанев*, А.В. Капусткина

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

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

Питание зерном культурных растений у некоторых видов растительноядных клопов способно приводить к значительному снижению количественных и качественных параметров урожая. В Северо-Западном регионе такой проблемы не существует, в то же время данные о поврежденности зерен возделываемых зерновых культур единичны. По результатам анализа образцов, выполненного с помощью инфракрасной микроскопии, определена низкая доля зерна озимой тритикале со следами питания растительноядных клопов в 2022–2024 гг. в Ленинградской области. Доля таких зерен в общей массе уборного урожая варьировала по годам от 1.2 до 4%. Преобладали повреждения, наносимые *Aelia acuminata*, *Carpocoris purpureipennis* и *Dolycoris baccarum*. Весенняя подкормка азотными удобрениями приводила к удлинению периода созревания озимой тритикале и увеличению поврежденности зерен растительноядными клопами. Наибольшая доля поврежденных зерен соответствовала вариантам опыта с высокими дозами азотных удобрений и составляла в разные годы от 1.3 до 5%.

Ключевые слова: озимая тритикале, растительноядные клопы, поврежденность зерен, азотные удобрения, инфракрасная микроскопия

Поступила в редакцию: 17.02.2025

Принята к печати: 17.10.2025

Введение

Среди вредителей зерновых культур особое место отводится видам, повреждения которыми приводят к значительному снижению не только количественных, но и качественных параметров урожая. Наиболее известным представителем этой группы вредителей является клоп вредная черепашка (*Eurygaster integriceps* Put.), который в силу широкого распространения и высокой вредоносности считается чрезвычайно опасным видом (Перечень..., 2010). Вредная черепашка вредит главным образом пшенице, в некоторых местах ячменю и овсу (Davari & Parker, 2018; Javahery et al., 2000; Neimorovets, 2020). Изучение сортовой устойчивости тритикале к вредной черепашке показало, что многие из генотипов обладали повышенной устойчивостью к повреждениям клопов (Najafi-Mirak, 2012). Помимо вредной черепашки, значительный ущерб урожаю зерновых культур на территории Италии, Турции, Ирана, Казахстана, Китая и в некоторых регионах России могут наносить и другие виды рода *Eurygaster* (Бурлака, Каплин, 2015; Рсалиев и др., 2024; Özkan et al., 2017; Vaccino et al., 2017; Neimorovets, 2020; Dilmen et al., 2023; Gibicsár, Sándor, 2023; Ouaraous et al., 2025; Özgökçe et al., 2025). Меньшее хозяйственное значение в силу биологических особенностей и размещения наносимых повреждений зерновкам имеют клопы *Aelia* spp. (Нейморовец, 2010; Каменченко и др., 2015; Багай, Лысенко, 2016; Salis et al., 2013; Dilmen et al., 2023; Gibicsár, Sándor, 2023; Wang et al., 2024), а клопы *Carpocoris* spp., *Lygus* spp. и *Dolycoris baccarum* L. – второстепенное (Орлов, 2006; Павлюшин и др., 2015; Ualiyeva et al., 2022; Dilmen et al., 2023).

Вред, наносимый хлебными клопами (*Eurygaster* spp. и *Aelia* spp.) зерновым культурам, зависит от вида клопа,

продолжительности питания на зерне и активности его пищеварительных ферментов. Клопы-черепашки и остроголовые клопы обладают высокой ферментативной активностью, способной гидролизовать все резервные вещества зерна в случае нанесения нескольких уколов на заключительных фазах созревания культуры. В результате происходит существенное ухудшение технологических, товарных, посевных и других свойств зерна. В частности, присутствие в партии пшеницы 2–5 % зерен, поврежденных клопами-черепашками (Экман, Вилкова 1972; Вилкова и др., 1976; Алехин, 2009; Дулов, Цуканова, 2008; Павлюшин и др., 2010; Karababa, Ozan, 1998; Hariri et al., 2000; Radjabi, 2000; Armstrong et al., 2019), или более 10 % зерен, поврежденных остроголовыми клопами (Гурова, 1976; Бурлака, 2005; Нейморовец, 2010), влечёт за собой ухудшение хлебопекарных качеств муки и понижение товарного класса зерна. Потери урожая от данных видов клопов могут быть значительными, особенно в годы вспышек численности или при отсутствии мер борьбы, и достигать 100 % (Конярев, 2020; Aja et al., 2004; Sivri et al., 2004; Armstrong et al., 2019; Konarev et al., 2019; Dizlek, Özer, 2021, 2024). Другие виды клопов в большей степени оказывают влияние на внешний вид и натуру зерна, нежели на его свойства, поскольку активность их пищеварительных ферментов значительно ниже (Крайнов, 1972; Михайлова, 1973; Павлюшин и др., 2015; Varis, 1991; Wheeler, 2000).

В отсутствии вредной черепашки и невысокой численности других видов растительноядных клопов на Северо-Западе России нет той остроты проблемы, связанной со снижением качественных показателей урожая, которая существует в более южных регионах возделывания зерновых

культур. Вместе с тем, в отдельные годы здесь случаются массовые размножения некоторых видов клопов, как например, ягодного клопа в Ленинградской области в 2022 г. (Шпанев, Капусткина, 2023). При этом в литературе, за редким исключением (Шпанев, Капусткина, 2023), отсутствуют данные о поврежденности растительными клопами зерен возделываемых зерновых культур в данном регионе, включая озимую тритикале. Эта ценная зернофуражная культура имеет большие перспективы для внедрения именно в Северо-Западном регионе с развитым

животноводством (Успенская и др., 2018). Для ее успешного возделывания необходима всесторонняя фитосанитарная информация, включая данные о поврежденности зерна клопами.

Целью исследования являлась оценка поврежденности образцов зерна озимой тритикале растительными клопами при сопутствующем влиянии весенней подкормки азотными удобрениями в условиях Ленинградской области.

Материалы и методы

Объектом исследований являлись 18 образцов зерна озимой тритикале сорта Немчиновский 56, отобранных в опытах с разными дозировками весенних подкормок азотными удобрениями, проведенных на полях Меньковского филиала Агрофизического НИИ (Ленинградская область, Гатчинский район) в 2022–2024 гг. (ежегодно – 6 образцов по 500 зерен). В качестве удобрения использовалась аммиачная селитра, которую вносили вручную из расчета 0, 30, 60, 90, 120 и 150 кг д.в./га, что соответствовало низкому (0–30 кг д.в./га), среднему (60–90 кг д.в./га) и высокому (120–150 кг д.в./га) уровням азотного питания. Площадь делянки составляла 4.5 м² (1.5 × 3.0 м), повторность – 6-кратная. Средства защиты растений в течение вегетации озимой тритикале не применялись.

Отбор проб для анализа поврежденности зерна растительными клопами проводили в соответствии с ГОСТАми 13586.4-83 “Зерно. Методы определения зараженности и поврежденности вредителями” и 30483-97 “Зерно. Методы определения общего и фракционного содержания сорной и зерновой примесей; содержания мелких зерен и крупности; содержания зерен пшеницы, поврежденных черепашкой; содержания металломагнитной примеси”. Для определения количественных и качественных параметров поврежденности зерна в каждом варианте опыта отбиралось для анализа 500 зерен (5 проб по 100 зерен).

Дифференциация зерен по поврежденности разными видами клопов проводилась на основании использования диагностических признаков, среди которых локализация укусов, четкость их границ и интенсивность затемнения под инфракрасным микроскопом. Повреждения, наносимые представителями рода *Eurygaster*, могут встречаться на разных частях зерновки, преимущественно в базальной части (спинка и бочки), в то время как в апикальной ее части укусы обнаруживаются сравнительно редко. При этом наибольшее количество укусов располагается на наружной стороне зерновки, нежели внутренней. Повреждения на брюшной стороне зерновки отсутствуют. Верхняя часть и зародыш зерновки не повреждаются клопами черепашками. Для видов рода *Aelia* характерна ограниченная зона размещения укусов и, в отличие от клопов рода *Eurygaster*, они преимущественно избирают боковые части зерновки в верхней ее половине (поблизости с “хохолком”), их укусы отсутствуют на спинке. Редко укусы делаются в область “хохолка” и прищитковую зону зародыша, и никогда в зародыш. Преимущественное нахождение укусов в верхней части зерновок обусловлено предпочтением остроголовых клопов размещаться на колосе определенным образом, а также более вытянутой и узкой формой тела. Ограниченная зона питания отмечена у остроплечего, ягодного,

травяного и хлебного клопов, что связано с их еще более слабым по мощности “вооружением” ротового аппарата, не предполагающим глубокого проникновения в зерновку при нанесении укусов. Чаще всего укусы, наносимые данными видами, размещаются в боковой части зерновки, т.е. в местах, где она слабо защищена покровами. Так, остроплечий клоп питается преимущественно на наружной боковой стороне зерновки, начиная от середины и выше, у вершины бочков укусов значительно меньше. Ягодный клоп проявляет четкую избирательность в отношении средней части бочков зерновки, однако наружный бочок подвергается более частым проколам по сравнению с внутренним. Полевой клоп избирает для питания среднюю и вершинную части зерновки. Возможность нанесения укусов в вершинную часть зерновки связана с относительно малыми размерами особей и формой их тела. Надежность диагностики повышается благодаря другому отличительному признаку – групповому или одиночному размещению укусов. Все виды клопов черепашек и щитников делают одиночные укусы, клопы семейства Miridae – серию укусов, располагая их друг за другом. При этом хлебные клопы и травяной клоп делают в одном месте разное число укусов – до 20 и не более 7 соответственно (Павлюшин и др., 2015).

Под инфракрасными лучами повреждение, нанесенное клопами р. *Eurygaster*, видно как интенсивно темно-серое или черное плотное пятно неправильной формы (редко имеет округлую форму) с четко очерченными границами. Повреждение клопами-черепашками распространяется глубоко вовнутрь зерновки. Зона повреждения остроголовыми клопами (род *Aelia*) заметно светлее и обычно серого или темно-серого цвета. Она неправильной угловатой формы (реже овальной или звездчатой формы), достаточно плотная и распространяется вглубь эндосперма. Повреждение остроплечими клопами (род *Carpocoris*) различной формы и конфигурации, при этом не имеет четких границ. Зона повреждения остроплечими клопами не распространяется глубоко внутрь и, как следствие, имеет меньшую интенсивность затемнения по сравнению с остроголовыми клопами и клопами черепашками (от серого до темно-серого цвета). Зона повреждения ягодным клопом (*D. baccarum*) характеризуется овальной или округлой формой (реже неправильной формы), слабой интенсивностью затемнения (от светло-серого до серого цвета), не распространяется вглубь эндосперма. На зрелом зерне граница между здоровой и поврежденной частью эндосперма выявляется с трудом. Зона повреждения полевым и травяным клопами имеет четкие границы, овальную форму и слабую интенсивность окраски

(светло-серую или серую окраску), не распространяется вглубь эндосперма (Вилкова и др., 1976; Михайлова, Дворянкина, 1984; Павлюшин и др., 2015).

Дифференциацию степени повреждения зерна клопами оценивали по 5-ти балльной шкале, разработанной в лаборатории сельскохозяйственной энтомологии ВИЗР, с использованием методов инфракрасной микроскопии и компьютерного сканирования в соответствии с ГОСТом 33538-2015 “Защита растений. Методы выявления и учета поврежденных зерен злаковых культур клопами-черепашками”.

Корректные результаты по видовой диагностике

Результаты и обсуждение

Оценка образцов озимой тритикале сорта Немчиновский 56 показала, что в условиях Ленинградской области средняя поврежденность зерна растительноядными клопами в годы исследований варьировала от 1.2 до 4% (табл. 1). Абсолютное большинство зерновок повреждалось в слабой степени (1 балл), в средней степени (2 и 3 балл) – 17.4 и 4.3%, а в сильной (4 и 5 балл) – не выявлялись ни в одной из анализируемых проб. Средневзвешенный балл повреждения составлял 0.05, 0.02 и 0.01 в 2022, 2023 и 2024 гг. соответственно.

На основе диагностических признаков повреждений можно заключить, что состав растительноядных клопов, осуществляющих питание содержимым зерен в период их созревания, представлен как олигофагами, так и полифагами. К числу первых относятся остроголовые клопы (*Aelia* spp.) и влаголюбивая черепашка (*Eurygaster testudinaria* Geoffroy), ко вторым – остроплечие клопы

повреждений зерновок тритикале растительноядными клопами удастся получить использованием нескольких диагностических признаков (размещение мест уколов, четкость их границ и интенсивность затемнения под инфракрасным микроскопом), каждый из которых дополняет и уточняет друг друга.

Статистическая обработка данных заключалась в расчете средних значений доли поврежденных зерен и степени их повреждения, согласно балловой оценке, стандартного отклонения для каждой из проб с разными дозами азотных удобрений, а также дисперсионного анализа и критерия Дункана.

(*Carpocoris* spp.), клопы лигусы (*Lygus* spp.) и ягодный клоп (*D. baccarum*). Чаще всего и с наименьшим варьированием по годам наносились повреждения клопами *Aelia* spp., среди которых встречался один вид – *Aelia acuminata* L. В общей массе поврежденных зерен на долю клопа *Carpocoris purpureipennis* De Geer в разные годы приходилось от 26.3 до 52.5% (табл. 2). В 2024 г. частота поврежденных зерновок данным видом возрастала почти в 2 раза по сравнению с двумя предыдущими годами, характеризующимися более засушливыми условиями. При массовом размножении ягодного клопа в 2022 г. на долю поврежденных зерен приходилось 36.5%, тогда как в последующие годы в 2 раза меньше – 18.7 и 11.5% соответственно. Второстепенная роль в повреждении зерен озимой тритикале отводится клопам лигусам и влаголюбивой черепашке, на долю которых в среднем по годам приходилось 3.3 и 6.5%, а в 2023 г. – 5.1 и 15.2%. Влаголюбивая

Таблица 1. Поврежденность зерна озимой тритикале растительноядными клопами (Ленинградская область, МФ АФИ, 2022–2024 гг.)

Table 1. Damage to winter triticale grain by herbivorous bugs (Leningrad Region, Menkovsky branch of the Agrophysical Research Institute, 2022–2024)

Год year	Доля поврежденных зерен % Quote of grain damage, %	В том числе по баллам Including scores					Средневзвешенный балл повреждения Weighted average damage score
		I	II	III	IV	V	
2022	4.0±0.2 ^a	3.1±0.2 ^a	0.8±0.1 ^a	0.1±0.05 ^a	0	0	0.05±0.003 ^a
2023	1.8±0.1 ^b	1.4±0.1 ^b	0.3±0.1 ^b	0.1±0.03 ^a	0	0	0.02±0.002 ^b
2024	1.2±0.1 ^b	1.0±0.1 ^b	0.2±0.1 ^b	0	0	0	0.01±0.001 ^b

Приведены средние значения и стандартное отклонение. Различия между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами по вертикали, несущественны по многогранговому критерию Дункана ($p \leq 0.05$).

Mean values and standard deviation are shown. Same letters in columns indicate values not different significantly, according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$).

Таблица 2. Частота повреждённого разными видами клопов зерна озимой тритикале

Table 2. Ratio of occurrence of damaged grain of winter triticale by different types of bugs

Год Year	Частота поврежденных зерен разными видами растительноядных клопов, % Frequency of grain damage by different species of plant-feeding bugs, %				
	<i>Aelia acuminata</i>	<i>Carpocoris purpureipennis</i>	<i>Dolycoris baccarum</i>	<i>Eurygaster testudinaria</i>	<i>Lygus</i> spp.
2022	32.9±8.5 ^a	26.3±4.2 ^a	36.5±8.6 ^a	2.2±3.6 ^a	2.1±2.3 ^a
2023	32.5±6.5 ^a	28.9±8.1 ^a	18.7±8.6 ^b	15.2±8.4 ^b	5.1±4.5 ^a
2024	31.4±7.2 ^a	52.5±16.2 ^b	11.5±7.4 ^b	2.2±3.4 ^a	2.8±4.4 ^a

Приведены средние значения и стандартное отклонение. Различия между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами по вертикали, несущественны по многогранговому критерию Дункана ($p \leq 0.05$).

Mean values and standard deviation are shown. Same letters in columns indicate values not different significantly, according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$).

черепашка в посевах озимой тритикале встречалась нами крайне редко, тогда как клопы лигусы, среди которых *Lygus rugulipennis* Poppius и *L. pratensis* L., относятся к числу массовых видов насекомых, предпочитающих питаться сорной растительностью и заселять ценозы других культур.

В результате оценки зерна озимой тритикале было установлено изменение доли и степени поврежденности зерен растительноядными клопами в зависимости от количества внесенного при подкормке азота (табл. 3). Так, на протяжении всего периода исследований наблюдалась одна и та же закономерность, когда с увеличением уровня азотного питания возрастала поврежденность зерен клопами. В 2022 г. различия в поврежденности зерен клопами были наиболее отчетливы, что подтверждается статистически. Противоположная ситуация наблюдалась в 2024 г., когда различия между вариантами были минимальны и недостоверны. Промежуточное положение занимал 2023 г. с достоверными различиями только между крайними вариантами по азотному питанию. По усредненным за годы

исследований данным при внесении средних доз азотных удобрений поврежденность зерна растительноядными клопами увеличивалась с 1.7 до 2.3%, а при высоких дозах – до 2.8%. Объяснение выявленного эффекта видится в разных сроках созревания озимой тритикале. Наиболее короткий период созревания наблюдался в контрольном варианте, не предусматривающем внесения азотных удобрений. Под влиянием азотных удобрений период созревания культуры и сроки питания клопов на зерновках удлиняются, что и находит отражение в увеличении их поврежденности клопами.

Частота поврежденных зерен клопами *C. purpureipennis* и *D. baccarum* уменьшалась по мере увеличения обеспеченности растений озимой тритикале азотом, тогда как для видов *Eu. testudinaria* и *Lygus* spp. просматривалась обратная закономерность. При этом статистическая обработка данных показала отсутствие достоверных различий по частоте поврежденного зерна озимой тритикале растительноядными клопами на разных уровнях азотного питания (табл. 4).

Таблица 3. Поврежденность зерна озимой тритикале растительноядными клопами на разных уровнях азотного питания

Table 3. Damage to winter triticale grain by herbivorous bugs in variants with different levels of nitrogen nutrition

Год Year	Уровень азотного питания Level of nitrogen supply	Доля поврежденных зерен, % Quote of grain damage, %	В том числе по баллам Including scores			Средневзвешенный балл повреждения Weighted average damage score
			I	II	III	
2022	Низкий (Low) N ₀₋₃₀	2.9±0.6 ^a	2.1±0.4 ^a	0.8±0.2 ^a	0.1±0.1 ^a	0.04±0.01 ^a
	Средний (Middle) N ₆₀₋₉₀	4.2±0.5 ^b	3.6±0.4 ^b	0.6±0.2 ^a	0	0.05±0.03 ^a
	Высокий (High) N ₁₂₀₋₁₅₀	5.0±0.7 ^b	3.9±0.6 ^b	1.1±0.2 ^a	0.03±0.03 ^b	0.06±0.01 ^a
2023	Низкий (Low) N ₀₋₃₀	1.1±0.4 ^a	1.3±0.3 ^a	0.3±0.1 ^a	0.2±0.1 ^a	0.02±0.004 ^a
	Средний (Middle) N ₆₀₋₉₀	1.5±0.3 ^a	1.3±0.3 ^a	0.2±0.1 ^a	0.04±0.04 ^b	0.02±0.003 ^a
	Высокий (High) N ₁₂₀₋₁₅₀	2.0±0.4 ^b	1.6±0.4 ^a	0.4±0.2 ^a	0.04±0.04 ^b	0.03±0.005 ^a
2024	Низкий (Low) N ₀₋₃₀	1.0±0.3 ^a	0.9±0.3 ^a	0.1±0.05 ^a	0	0.01±0.003 ^a
	Средний (Middle) N ₆₀₋₉₀	1.2±0.3 ^a	1.0±0.2 ^a	0.2±0.1 ^a	0	0.01±0.004 ^a
	Высокий (High) N ₁₂₀₋₁₅₀	1.3±0.3 ^a	1.1±0.3 ^a	0.2±0.1 ^a	0	0.01±0.004 ^a

Приведены средние значения и стандартное отклонение. Различия между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами по вертикали, несущественны по многогранговому критерию Дункана ($p \leq 0.05$).

Mean values and standard deviation are shown. Same letters in columns indicate values not different significantly, according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$).

Таблица 4. Соотношение встречаемости повреждённого зерна озимой тритикале растительноядными клопами на разных уровнях азотного питания

Table 4. Ratio of occurrence of damaged grain of winter triticale by herbivorous bugs in variants with different levels of nitrogen nutrition

Уровень азотного питания Level of nitrogen supply	Частота поврежденных зерен разными видами растительноядных клопов, % Frequency of grain damage by different species of plant-feeding bugs, %				
	<i>Aelia acuminata</i>	<i>Carpocoris purpureipennis</i>	<i>Dolycoris baccarum</i>	<i>Eurygaster testudinaria</i>	<i>Lygus</i> spp.
Низкий (Low) N ₀₋₃₀	28.6±6.9 ^a	41.0±18.5 ^a	24.6±17.8 ^a	4.7±4.7 ^a	1.2±1.8 ^a
Средний (Middle) N ₆₀₋₉₀	34.1±8.6 ^b	35.1±17.4 ^b	22.9±12.6 ^b	5.1±10.5 ^a	2.9±3.6 ^b
Высокий (High) N ₁₂₀₋₁₅₀	33.5±4.5 ^b	31.5±12.0 ^b	19.1±10.2 ^b	9.9±8.9 ^b	6.0±4.5 ^b

Приведены средние значения и стандартное отклонение. Различия между вариантами, обозначенными одинаковыми буквами по вертикали, несущественны по многогранговому критерию Дункана ($p \leq 0.05$).

Mean values and standard deviation are shown. Same letters in columns indicate values not different significantly, according to Duncan's multiple range test ($p \leq 0.05$).

Заключение

Суммарная поврежденность зерна озимой тритикале растительными клопами в годы исследований на полях МФ АФИ в Ленинградской области оказалась низкой и не превышала 5% даже в условиях массового размножения одного из видов, случившегося в 2022 г. При этом в абсолютном большинстве случаев зерновки были слабо

повреждены, что характерно для преобладающих на посевах этой культуры *A. acuminata*, *C. purpureipennis* и *D. baccarum*. Весенняя подкормка азотными удобрениями приводила к удлинению сроков вегетации и периода созревания озимой тритикале и, как следствие, увеличению поврежденности зерен растительными клопами.

Библиографический список (References)

- Алехин ВТ (2009) Вредная черепашка и проблема получения качественного зерна. *Защита и карантин растений* 5:6–7
- Багай ДА, Лысенко НН (2016) Сосущие насекомые на зерновых колосовых культурах в Орловской области. *Вестник Орловского государственного аграрного университета* 2:8–15
- Бурлака ГА (2005) Биоэкологическое обоснование защиты зерновых культур от хлебных клопов в лесостепи северного Поволжья. *Дисс. ... к.б.н.* Кинель. 276 с.
- Бурлака ГА, Каплин ВГ (2015) Биоэкологическое обоснование защиты зерновых злаков от хлебных клопов (надсемейства Pentatomoidea) в лесостепи Среднего Поволжья. Самара: РИЦ СГСХА. 145 с.
- Вилкова НА, Шапиро ИД, Борщева ТА (1976) Использование инфракрасной микроскопии для диагностики повреждения и устойчивости зерновок к клопам. В кн.: *Методы исследования патологических изменений в растении*. М.: Колос. 216–219
- Вилкова НА, Шапиро ИД, Слепян ЭИ, Гапонова АГ (1976) К методике определения устойчивости пшениц к вредной черепашке. В кн.: *Методы исследования патологических изменений в растении*. М.: Колос. 205
- Гурова НН (1976) К вопросу о вредоносности остроголовых щитников (на озимых и яровых злаках). В кн.: *Защита растений от вредителей и болезней в условиях Юго-Востока Западного Казахстана*. Саратов: Саратовский сельскохозяйственный институт. 68–71
- Дулов МИ, Цуканова ЕС (2008) Влияние клопа-черепашки на технологические и хлебопекарные свойства зерна сортов яровой мягкой пшеницы в условиях Среднего Поволжья. *Нива Поволжья* 3(8):15–21
- Каменченко СЕ, Стрижков НИ, Наумова ТВ (2015) Вредоносность остроголовых клопов на зерновых культурах в Поволжье. *Земледелие* 2:37–38
- Крайнов ЮП (1972) Особенности питания и пищеварения хлебных клопов в связи с их взаимоотношениями с кормовыми растениями. *Дисс. ... к.б.н.* Л. 145 с.
- Михайлова НА, Дворянкина ВА (1984) Диагностика повреждений зерна пшеницы. *Защита растений* 7:10
- Михайлова НА (1973) Эколого-физиологическое обоснование вредоносности слепняков (*Trigonotylus ruficornis* Geoffr. и *Lygus rugulipennis* Poppius) на пшенице. *Автореф. дисс. ... к.б.н.* Л. 26 с.
- Нейморовец ВВ (2010) Остроголовые клопы рода *Aelia* в России и сопредельных странах. *Защита и карантин растений* 3:64–65
- Орлов ВН (2006) Вредители зерновых колосовых культур. М.: Печатный город. 104 с.
- Павлюшин ВА, Вилкова НА, Сухорученко ГИ, Нефедова ЛИ (2010) Вредная черепашка: распространение, вредоносность, методы контроля. *Защита и карантин растений* 1:53–84
- Павлюшин ВА, Вилкова НА, Сухорученко ГИ, Нефедова ЛИ и др (2015) Вредная черепашка и другие хлебные клопы. СПб.: ВИЗР. 280 с.
- Перечень особо опасных для продукции растительного происхождения вредных организмов (2010). *Вестник защиты растений* 4:73–75
- Рсалиев ШС, Сарбаев АТ, Есеркенов АА (2024) Развитие вредной черепашки на озимой пшенице в зерносеющих регионах Казахстана. *Izdenister Natigeler* 2–1:359–367. <https://doi.org/10.37884/2-1-2024/573>
- Успенская ВА, Бекиш ЛП, Чикида НН (2018) Источники хозяйственно ценных признаков для селекции озимой тритикале на Северо-Западе РФ. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции* 3(179):85–94
- Шпанев АМ, Капусткина АВ (2023) Особенности развития и вредоносность ягодного клопа в посевах зерновых культур на Северо-Западе России. *Зерновое хозяйство России* 5:105–111. <https://doi.org/10.31367/2079-8725-2023-88-5-105-111>
- Экман НВ, Вилкова НА (1972) Биохимические аспекты ухудшения хлебопекарного качества пшеницы, поврежденной вредной черепашкой. В кн.: *Повышение качества зерна пшеницы*. М.: Колос. 198–202
- Aja S, Pérez G, Rosell CM (2004) Wheat damage by *Aelia* spp. and *Erygaster* spp.: Effects on gluten and water-soluble compounds released by gluten hydrolysis. *J Cereal Sci* 39:187–193. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2003.10.001>
- Armstrong P, Maghirang E, Ozulu M (2019) Determining damage levels in wheat caused by Sunn pest (*Eurygaster integriceps*) using visible and near-infrared spectroscopy. *J Cereal Sci* 86:102–107. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.02.003>
- Davari A, Parker B (2018) A review of research on Sunn Pest *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) management published 2004–2016. *J Asia-Pacif Entomol* 21(1):352. <https://doi.org/10.1016/J.ASPEN.2018.01.016>
- Dilmen H, Kaplan C, Özgökçe MS, Çiftçi MC et al (2023) Determination of harmful and beneficial predator insect species and the distribution and density of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) in wheat-cultivated areas of Siirt province. *Plant Protection Bull* 63(2):23–30. <https://doi.org/10.16955/bitkorb.1095875>
- Dizlek H, Özer MS (2021) Improvement bread characteristics of high-level sunn pest (*Eurygaster integriceps*) damaged wheat by modification in kneading and fermentation conditions. *J Cereal Sci* 102:103336. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2021.103336>
- Dizlek H, Özer MS (2024) A study to clarify whether sunn pest (*Eurygaster integriceps*) increases amylase activity

- in wheat. *Heliyon* 10:e30870. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e30870>
- Gibicsár S., Sándor K. (2023) Topographical Based Significance of Sap-Sucking Heteropteran in European Wheat Cultivations: A Systematic Review. *Diversity* 1(15):109
- Hariri G, Williams PC, Jaby El-Haramain F (2000) Influence of pentatomid insects on the physical dough properties and two-layered flat bread baking quality of Syrian wheat. *J Cereal Sci* 31(2):111–118. <http://dx.doi.org/10.1006/jcrs.1999.0294>
- Javahery M, Schaefer CW, Lattin, JD (2000) Chapter 14. Shield bugs (Scutelleridae), in Heteroptera of Economic Importance. CRC Press. 475
- Karababa E, Ozan AN (1998) Effect of wheat bug (*Eurygaster integriceps*) damage on quality of a wheat variety grown in Turkey. *J Sci Food Agric* 77(3):399–403. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199807\)77:3%3C399::AID-JSFA48%3E3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199807)77:3%3C399::AID-JSFA48%3E3.0.CO;2-8)
- Konarev A, Dolgikh V, Senderskiy I, Konarev A et al (2019) Characterisation of proteolytic enzymes of *Eurygaster integriceps* Put. (Sunn bug), a major pest of cereals. *J Asia-Pacif Entomol* 22(1):379–385. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.02.001>
- Neimorovets V (2020) Review of the Genus *Eurygaster* (Hemiptera: Heteroptera: Scutelleridae) of Russia. *Zootaxa* 4722:501–539. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4722.6.1>
- Ouaarous M, El Fakhouri K, Taarji N, Baouchi A et al (2025) Impact of field insect pests on seed and nutritional quality of some important crops: a comprehensive review. *ACS Omega* 10(9):8779–8792. <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c08982>
- Özgökçe M, Doğanç M, Kara H (2025) Molecular phylogeny and population structure of *Eurygaster integriceps* (Hemiptera: Scutelleridae) in the Southeastern Anatolia Region of Türkiye. *Turk J Zool* 49(3):135–147. <https://doi.org/10.55730/1300-0179.3219>
- Özkan M, Babaroğlu EN, Gökdoğan A, Kan M et al (2017) Determination of the crop losses by sunn pest (*Eurygaster maura* L., Hemiptera: Scutelleridae) and economic damage threshold in Central Anatolia Region. *Bitki Koruma Bülteni* 57(2):137–203. <https://doi.org/10.16955/bitkorb.298560>
- Rajabi GH (2000) Ecology of cereal Sunn Pest in Iran. Tehran: Agricultural Research, Education and Extension Organization Press. 343
- Salis L, Goula M, Izquierdo J, Gordún E (2013) Population density and distribution of wheat bugs infesting durum wheat in Sardinia, Italy. *J Insect Sci* 13:50. <https://doi.org/10.1673/031.013.5001>
- Sivri D, Batey IL, Skylas J, Daqiq L et al (2004) Changes in the composition and size distribution of endosperm proteins from bug-damaged wheats. *Austral J Agric Res* 55(4):477–483. <https://doi.org/10.1071/AR03185>
- Ualiyeva RM, Kukusheva AN, Insebaeva MK, Zhumabekova DK et al (2022) Phytophages in the agrocenosis of spring wheat in the Pavlodar region. *С.Сейфуллин атындағы ҚАЗАҚ агротехникалық университетінің ғылым жаршысы* 2(113):46–55 [https://doi.org/10.51452/kazatu.2022.2\(113\).955](https://doi.org/10.51452/kazatu.2022.2(113).955)
- Vaccino PP, Ingegno BL, Pansa MG, Coppa T et al (2017) Common wheat and cereal bug interactions: kernel quality depletion and immunodetection of damage. *J Agric Sci* 155(2):193–204. <https://doi.org/10.1017/S0021859616000162>
- Varis A-L (1991) Effect of *Lygus* (Heteroptera: Miridae) Feeding on Wheat Grains. *J Econ Entomol* 84(3):1037–1040. <https://doi.org/10.1093/jee/84.3.1037>
- Wang Y, Zhu X, Dong X, Wang K et al (2024) Species boundaries and phylogenetics of *Aelia* stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae) in China, with notes on mitochondrial discordance. *Zool Scr* 54(5). <https://doi.org/10.1111/zsc.12706>
- Wheeler Jr. AG (2000) Plant Bugs as Plant Pests. In: Heteroptera of economic importance. Boca Raton: 37–84.

Translation of Russian References

- Alekhine VT (2009) [Harmful turtle and the problem of obtaining high-quality grain]. *Zashchita i karantin rasteniy* 5:6–7 (In Russian)
- Bagay DA, Lysenko NN (2016) [Sucking insects on cereal crops in the Oryol region]. *Vestnik Orlovskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* 2:8–15 (In Russian)
- Burlaka G. A. (2005) [Bioecological justification for protecting grain crops from grain bugs in the forest-steppe of the northern Volga region] *Diss. ... k.b.n.* Kinel. 276 p. (In Russian)
- Burlaka GA, Kaplin VG (2015) [Bioekologicheskoe obosnovanie zashchity zernovykh zlakov ot khlebnikh klopov (nadsemejstva Pentatomoidea) v lesostepi Srednego Povolzhya: monografiya] Samara: RIC SGSHA. 145 p. (In Russian)
- Vilkova NA, Shapiro ID, Borshcheva TA (1976) [Use of infrared microscopy for diagnostics of damage and resistance of grains to bugs]. In the book: *Metody issledovaniya patologicheskikh izmeneniy v rastenii*. Moskva: Kolos. 216–219 (In Russian)
- Vilkova NA, Shapiro ID, Slepyan EI, Gaponova AG (1976) [On the methodology for determining wheat resistance to the harmful tortoise]. In the book: *Metody issledovaniya patologicheskikh izmeneniy v rastenii*. Moscow: Kolos. 205 (In Russian)
- Gurova NN (1976) [On the harmfulness of sharp-headed shield bugs (on winter and spring cereals)]. In: *Zashchita rasteniy ot vreditel'ey i bolezney v usloviyakh Yugo-Vostoka Zapadnogo Kazakhstana*. Saratov: Saratovskiy sel'skokhozyaystvennyy institut. 68–71 (In Russian)
- Dulov MI, Tsukanova ES (2008) [The influence of the tortoise bug on the technological and baking properties of spring soft wheat varieties in the conditions of the Middle Volga region]. *Niva Povolzhya* 3(8):15–21 (In Russian)
- Kamenchenko SE, Strizhkov NI, Naumova TV (2015) [Harmfulness of acute-headed bugs on grain crops in the Volga region]. *Zemledeliye* 2:37–38 (In Russian)
- Kraynov YUP (1972) [Osobennosti pitaniya i pishhevareniya khlebnikh klopov v svyazi s ikh vzaimootnosheniyami s kormovymi rasteniyami] *Diss. ... k.b.n.* Leningrad. 145 p. (In Russian)
- Mikhaylova NA, Dvoryankina VA (1984) [Diagnostics of wheat grain damage]. *Zashchita rasteniy* 7:10 (In Russian)

- Mikhaylova NA (1973) [Ekologo-fiziologicheskie obosnovanie vredonosnosti slepnyakov (*Trigonotylus ruficornis* Geoffr. i *Lygus rugulipennis* Poppius) na pshenitse] *Avtoref. diss. ... k.b.n.* Leningrad. 26 p. (In Russian)
- Neymorovets VV (2010) [Acute-headed bugs of the genus *Aelia* in Russia and adjacent countries]. *Zashchita i karantin rasteniy* 3:64–65 (In Russian)
- Orlov VN (2006) [Pests of cereal crops]. Moskva: Pechatnyy gorod. 104 p. (In Russian)
- Pavlyushin VA, VilkoVA NA, Sukhoruchenko GI, Nefedova LI (2010) [Harmful turtle: distribution, harmfulness, control methods]. *Zashchita i karantin rasteniy* 1:53–84 (In Russian)
- Pavlyushin VA, VilkoVA NA, Sukhoruchenko GI, Nefedova LI et al (2015) [The Sunn pest and other grain bugs]. Saint-Petersburg: VIZR. 280 p. (In Russian)
- List of pests particularly dangerous for plant products (2010). *Vestnik zashchity rasteniy* 4:73–75 (In Russian)
- Rsaliev SHS, Sarbaev AT, Eserkenov AA (2024) [Razvitiye vrednoy cherepashki na ozimoj pshenitse v zernoseyushhikh regionakh Kazakhstana]. *Izdenister Natigeler* 2–1:359–367 (In Russian) <https://doi.org/10.37884/2-1-2024/573>
- Uspenskaya VA, Bekish LP, Chikida NN (2018) [Sources of economically valuable traits for breeding winter triticale in the North-West of the Russian Federation]. *Trudy po prikladnoy botanike, genetike i seleksii* 3(179):85–94 (In Russian)
- Shpanev AM, Kapustkina AV (2023) [Features of development and harmfulness of the berry bug in grain crops in the North-West of Russia]. *Zernovoye khozyaystvo Rossii* 5:105–111 (In Russian) <https://doi.org/10.31367/2079-8725-2023-88-5-105-111>
- Ekman NV, VilkoVA NA (1972) [Biochemical aspects of deterioration of baking quality of wheat damaged by the harmful tortoise]. In: *Povysheniye kachestva zerna pshenitsy*. Moscow: Kolos. 198–202 (In Russian)

Plant Protection News, 2025, 108(3), p. 190–196

OECD+WoS: 1.06+IY (Entomology)

<https://doi.org/10.31993/2308-6459-2025-108-3-16833>

Short communication

DAMAGE TO WINTER TRITICALE GRAIN BY HERBIVOROUS BUGS IN THE LENINGRAD REGION

A.M. Shpanev*, A.V. Kapustkina

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

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

Damage to grains by herbivorous bugs leads to decrease of quantitative and qualitative crop parameters. In North-Western Russia, this problem is negligible, yet actual data on grain damage are lacking. Based on the analysis using infrared microscopy, low damage to winter triticale grain by herbivorous bugs was determined in 2022–2024 in the Leningrad Region. The quote of damaged grains in the total mass of the harvested crop varied from 1.2 to 4% over the years. The damage caused by the species *Aelia acuminata*, *Carpocoris purpureipennis* and *Dolycoris baccarum* was the predominant. Spring fertilization with nitrogen fertilizers led to an extension of the ripening period of winter triticale and an increase in grain damage by herbivorous bugs. The highest proportion of damaged grains corresponded to the experimental variants with high doses of nitrogen fertilizers and amounted from 1.3 to 5% in different years.

Keywords: winter triticale, herbivorous bugs, grain damage, nitrogen fertilizers, infrared microscopy.

Submitted: 17.02.2025

Accepted: 17.10.2025

© Shpanev A.M., Kapustkina A.V., published by All-Russian Institute of Plant Protection (St. Petersburg). This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Научное издание

Подписано к печати 11 ноября 2025 г.

Формат 60x84/8. Объем 8.5 п.л. Тираж 200 экз.

Заказ

