УДК 632.35:634.8 DOI 10.34919/IM.2023.90.40.005

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Фитоплазменные заболевания – современный вызов стабильному развитию виноградарства в Крыму

Радионовская Я.Э. $^{1\boxtimes}$, Алейникова Н.В. 1 , Бондаренко Г.Н. 2,3 , Хамаева Б.Б. 2 , Болотянская Е.А. 1 , Белаш С.Ю. 1

¹Всероссийский национальный научно-исследовательский институт виноградарства и виноделия «Магарач» РАН, г. Ялта, Республика Крым, Россия;

²Всероссийский центр карантина растений (ФГБУ «ВНИИКР»), г. Раменское, Московская область, Россия;

³Аграрно-технологический институт Российского университета дружбы народов, г. Москва, Россия.

Аннотация. Цель проведённых в 2018–2020 гг. исследований заключалась в оценке распространённости и изучении биоэкологических особенностей развития нового вредоносного фитоплазмоза – почернение древесины винограда (Bois Noir, BN) в Крыму. В ходе регулярных осмотров виноградников выявлено 683 га (41 участок), инфицированных фитоплазмозом; в растительном материале (побеги, листья) с 16 участков (266 га) методами Nested PCR (Polymerase Chain Reaction) и Real-time PCR диагностирован возбудитель – Candidatus Phytoplasma solani. Установлено, что наибольшая площадь инфицированных участков находится в Юго-западном Крыму, где сосредоточено 58 % от общей площади выявленных виноградников с ВN, минимальная – 1 % на Южном берегу Крыма. Появление первых симптомов развития фитоплазмоза варьировало в пределах 2 недель: 1–2 декада июня для сорта Шардоне, наиболее чувствительного к данной инфекции. Определены 11 классических (Шардоне, Алиготе, Вердельо, Пино нуар, Бастардо, Каберне Совиньон, Мерло, Траминер розовый, Мальбек) и местных (Бастардо магарачский, Кокур белый) сортов, в разной степени подверженных поражению ВN. Отмечены различия в интенсивности развития вN по годам: умеренный и эпифитотийный уровни заболевания превалировали в 2018 и 2019 гг. (на 45–59 % площади виноградников с симптомами вN), в условиях 2020 г. преобладал слабый уровень (41 %). Природных резерваций вN в образцах 4 видов сорной и дикой растительности внутри и вокруг виноградников исследованиями не выявлено.

Ключевые слова: Vitis vinifera; почернение древесины винограда; Candidatus Phytoplasma solani; Nested PCR; Real-time PCR; распространение; особенности развития.

Для цитирования: Радионовская Я.Э., Алейникова Н.В., Бондаренко Г.Н., Хамаева Б.Б., Болотянская Е.А., Белаш С.Ю. Фитоплазменные заболевания – современный вызов стабильному развитию виноградарства в Крыму // «Магарач». Виноградарство и виноделие. 2023;25(4):356-362. DOI 10.34919/IM.2023.90.40.005.

ORIGINAL RESEARCH

Phytoplasma diseases as a modern challenge to sustainable development of viticulture in Crimea

Radionovskaya Ya.E.^{1⊠}, Aleinikova N.V.¹, Bondarenko G.N.^{2,3}, Khamaeva B.B.², Bolotianskaia E.A.¹, Belash S.Yu.¹

¹All-Russian National Research Institute of Viticulture and Winemaking Magarach of the RAS, Yalta, Republic of Crimea, Russia;

²All-Russian Center for Plant Quarantine (FSBI VNIIKR), Ramenskoye, Moscow region, Russia;

³Agrarian and Technological Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia.

Abstract. The purpose of the studies carried out in 2018–2020 consisted in assessing the prevalence, and investigation of bioecological development features of a new harmful phytoplasmosis - grapevine black wood trunk disease (Bois Noir, BN) in Crimea. During regular inspections of vineyards, 683 hectares (41 plots) infected with phytoplasmosis were identified. In plant material (shoots, leaves) from 16 plots (266 ha), the pathogen - *Candidatus* Phytoplasma solani - was diagnosed using methods of Nested PCR (Polymerase Chain Reaction) and Real-time PCR. It is established that the largest area of infected plots is located in the South-Western Crimea, where 58% of the total area of vineyards with confirmed BN is concentrated. Minimal BN development - 1% was registered in the South Coast of Crimea. The onset of first symptoms of phytoplasmosis development varied within 2 weeks: 1–2 ten days of June for 'Chardonnay' variety as the most sensitive to this infection. Eleven traditional ('Chardonnay', 'Aligote', 'Verdelho', 'Pinot Noir', 'Bastardo', 'Cabernet Sauvignon', 'Merlot', 'Traminer Rose', 'Malbec') and local ('Bastardo Magarachskiy', Kokur Belyi') varieties, susceptible to BN affection to a varying degree, were identified. Differences in the intensity of BN development by years were noted: moderate and epiphytotic disease levels prevailed in 2018 and 2019 (45–59% of the vineyard areas with BN symptoms), slow development level prevailed in 2020 (41%). The research has not identified natural BN reserves in the samples of 4 types of weed and wild vegetation inside and around the vineyards.

Key words: *Vitis vinifera*; Bois Noir (black wood) grapevine trunk disease; *Candidatus* Phytoplasma solani; Nested PCR; Real-time PCR; spreading; development features.

For citation: Radionovskaya Ya.E., Aleinikova N.V., Bondarenko G.N., Khamaeva B.B., Bolotianskaia E.A., Belash S.Yu. Phytoplasma diseases as a modern challenge to sustainable development of viticulture in Crimea. Magarach. Viticulture and Winemaking. 2023;25(4):356-362. DOI 10.34919/IM.2023.90.40.005 (*in Russian*).

[™]vovkayalta@mail.ru

[™]vovkayalta@mail.ru

[©] Радионовская Я.Э., Алейникова Н.В., Бондаренко Г.Н., Хамаева Б.Б., Болотянская Е.А., Белаш С.Ю., 2023

Введение

В мире за прошедшие полувека с момента обнаружения возбудителя фитоплазменных болезней отмечаются значительные успехи в познании этих патогенов: расширяется список растений-хозяев и переносчиков инфекции, изучаются генетические аспекты вредоносности; установлено широкое распространение и катастрофическая вредоносность фитоплазмозов [1, 2]. Исследованиями, проведенными в России за последнее десятилетие, показано, что фитоплазмы поражают более 20 видов культурных растений, в том числе плодовые, ягодные и виноград [3, 4].

Среди видов растений, инфицированных фитоплазмами, виноградная лоза - одна из тех, которая наиболее сильно пострадала на мировом уровне. Распространение фитоплазмозов винограда в мире связано непосредственно с районами возделывания виноградников и ареалом насекомых-переносчиков фитоплазменной инфекции [5]. Самые опасные фитоплазменные болезни винограда европейского Vitis vinifera – это золотистое пожелтение Grapevine Flavescence Dorée (FD) и почернение древесины винограда Bois Noir (BN), которые относятся к группе желтух винограда (Grapevine yellows, GY) и вызывают схожие симптомы поражения растений; их видовая идентификация возможна только с использованием молекулярного метода. Возбудитель BN - бактерия *Candidatus* Ph. solani из группы столбур (stolbur), подгруппы 16SrXII-А является карантинным объектом в странах Европейского союза (список А 2), Норвегии, Турции (список А 2), Израиля, Иордании и др. [6]. Данное заболевание является самым распространенным фитоплазмозом винограда в Европе, развитие которого может приводить к региональным потерям до 50 % [7]. На территории Евразийского экономического союза, в том числе России, BN не является объектом карантина, в отличие от фитоплазмоза золотистое пожелтение – возбудитель *Candidatus* Phytoplasma vitis из подгруппы 16SrV, имеющего карантинный статус [8].

Для южных регионов России (Краснодарский край и Крым), где сосредоточены основные площади виноградных насаждений, уже опубликованы первые данные о наличии участков виноградников с симптоматикой фитоплазмоза и положительных результатах ПЦР-диагностики на Candidatus Ph. solani; инфекция FD не обнаружена [9-11]. Известно, что на указанных территориях возбудители столбура ряда других сельскохозяйственных культур (томаты, перец, картофель, морковь, табак) относятся к фитоплазмам подгруппы 16SrXII-A, как и фитоплазмоза BN [1, 3, 4]. Однако заболевания столбуром на этих культурах известны и изучаются давно, а проблема фитоплазменных болезней виноградников актуализировалась только в последнее десятилетие, поэтому авторы статьи в большей

степени связывают многочисленные проявления фитоплазмоза на виноградниках Крыма с массовой интродукцией инфицированных саженцев из европейских стран с начала нового столетия. По мнению Кастальевой Т.Б. с соавторами, для разъяснения данной ситуации необходим мониторинг фитоплазмозов винограда с применением методов ПЦР-анализа для выявления групп и подгрупп фитоплазм, ранее не отмечавшихся на территории России, и определения на основе анализа набора генов их принадлежности к конкретному биотипу [3].

Принимая во внимание, что фитоплазмоз BN относится к системным заболеваниям и характеризуется высокой вредоносностью (снижая количественные и качественные показатели урожая, сокращая срок эксплуатации виноградников), а также отсутствие на сегодняшний день эффективных мер контроля, актуальность исследований, направленных на изучение вопросов, связанных с эпидемиологией нового для Крыма патогена, является актуальным.

Цель исследований – мониторинг виноградных насаждений в Крыму для изучения нового актуального фитоплазмоза – почернение древесины винограда, как современного вызова устойчивого развития виноградарской отрасли, и создания в дальнейшем информационной базы данных регионального уровня по данному заболеванию. Задачи исследований: выявить участки с визуальными симптомами поражения виноградных растений, ассоциируемых с фитоплазмозом; молекулярно-генетическими методами диагностировать возбудителя заболевания; дать оценку распространённости почернения древесины винограда; изучить симптоматику и биоэкологические особенности развития ВN в условиях Крыма.

Материалы и методы исследования

Исследования проводились в 2018-2020 гг. на насаждениях виноградарских предприятий четырех основных зон виноградарства Крыма: Южнобережная (ЮБК), Горно-долинная (ГДК), Центральная степная (ЦСК), Юго-западная (ЮЗК). Распространенность и интенсивность поражения виноградных растений фитоплазмозом BN изучали в ходе маршрутных обследований виноградников, проводимых с мая по октябрь. Распространённость оценивали по показателю количества больных растений, выраженного в процентах от общего числа осмотренных кустов. Степень поражения виноградных растений BN оценивали по разработанной шкале: слабая -1-2 побега на кусте с симптом BN; средняя - 3-5 побегов на кусте имеют симптомы BN; сильная – более 5 побегов на кусте имеют симптомы ВN. Уровень (интенсивность) развития фитоплазмоза характеризовали, применяя авторскую градацию: слабый – до 10 % растений с признаками BN в слабой степени или до 5 % растений с признаками ВМ

Таблица 1. Праймеры, использованные для постановки ПЦР **Table 1.** The primers used for PCR

Phytoplasma diseases as a modern challenge to

sustainable development of viticulture in Crimea

№ п/п	Название пары	Последовательность	Ген	Размер продукта, п.о.
1	P1/P7 I этап	AAGAGTTTGATCCTGGCTCAGGATTCGTCCTTCATCGGCTCTT	16S-23S	1280-1570
2	M23Sr 16r758f II этап	TAGTGCCAAGGCATCCACTGTGGTCTTTACTGACGCTGAGGC	16S-23S	1000-1100
3	fU5 rU3 II этап	CGGCAATGGAGGAAACTTTCAGCTACTCTTTGTAACA	16S-23S	850-950

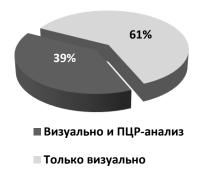


Рис. 1. Доля площадей виноградников Крыма, на симптомы визуальные инфицирования Candidatus Ph. solani подтверждены результатами ПЦРанализа (по данным 2018-2020 гг.)

Fig. 1. The proportion of Crimean vineyard areas with confirmed by the results of PCR-analysis visual symptoms of *Candidatus* Ph. solani (according to the data of 2018-2020)

в средней и сильной степени; умеренный – до 40 % растений с признаками BN в разной степени; эпифитотийный – более 40 % растений с признаками BN в разной степени.

Лабораторные исследования по идентификации возбудителя фитоплазмоза в пробах растительного материала винограда (побеги, листья с типичными симптомами поражения и без симптомов), а также сорной и дикой растительности вокруг инфицированных виноградников (листья, стебли нормально развитые и с разными деформациями) проводили в ФГБУ «ВНИИКР» (г. Москва) и филиале ФГБУ «ВНИИКР» в Республике Крым (г. Симферополь). Отбор образцов осуществляли в июле-августе.

Выделение ДНК из растительного материала проводили согласно методическим рекомендациям, разработанным в ФГБУ «ВНИИКР» [12]. Для изолирования фитоплазм из растительных тканей образцов в разрушающем буфере измельчали листовые черенки или стеблевую флоэму растений. Метод «Doyle&Doyle» использовали для выделения ДНК [13]; качественную и количественную оценку полученной ДНК проводили с помощью спектрофотометра NanoDrop 2000 («Thermo Fhisher scf.», Литва). Образцы анализировали методом классического ПЦР (табл. 1), ПЦР в режиме реального времени с применением коммерческих наборов компании «Синтол» и «Агродиагностика» (Москва,



Рис. 2. Соотношение площадей виноградников с признаками BN в основных зонах виноградарства Крыма (по данным 2018–2020 гг.)

Fig. 2. The proportion of vineyard areas with BN symptoms in the main viticultural zones of Crimea (according to the data of 2018–2020)

Россия) [14–16].

После визуализации методом горизонтального электрофореза целевые продукты ПЦР очищали от побочных продуктов (остатки реакционной смеси) с помощью коммерческого набора «Gene Jet PCR Purification Kit», в котором используется метод очистки ДНК на колонках («Thermo Fisher Scientific», Литва).

Расшифровка нуклеотидных последовательностей проводилась на генетическом анализаторе Genetic Analyzer AB-3500 методом капиллярного электрофореза. Для вставки меченых нуклеотидов в составе фрагментов ДНК применяли набор «Від Dye Terminator Kit v 3.1» для проведения секвенирования («Applied Biosystems», США, Япония). Полученные последовательности форматировали в программах «Sequencing analysis» и «BioEdit», сравнивали их с данными генетических баз NCBI и Q-bank [17].

Результаты и их обсуждение

В ходе фитосанитарных обследований виноградных насаждений различных зон виноградарства Крыма типичные визуальные симптомы заболевания, ассоциируемые с фитоплазмозом BN, выявлены на 41 участке общей площадью 683 га. Молекулярно-генетические исследования проведены в образцах растительного материала с 29 участков, для 16 участков общей площадью 266 га подтверж-

Таблица 2. Характеристика интенсивности поражения виноградных насаждений фитоплазмозом BN в Крыму за 2018–2020 гг.

Table 2. Characteristics of the affection intensity of Crimean vineyards with BN phytoplasmosis during 2018–2020

Vnoneus gonessessus poetassus RN	Площадь виноградников, %			
Уровень поражения растений BN	2018 г.	2019 г.	2020 г.	
Слабый	21	33	41	
Умеренный	45	8	38	
Эпифитотийный	34	59	21	

дено наличие фитоплазменной инфекции и диагностирован возбудитель заболевания *Candidatus* Ph. solani. Таким образом, для 39 % от всей площади насаждений с признаками инфекции достоверно диагностирован фитоплазмоз почернение древесины винограда (рис. 1).

Согласно результатам исследований наибольшая площадь участков, пораженных фитоплазмозом, отмечена в ЮЗК – 58 %; существенно меньшие площади инфицированных фитоплазмой виноградников выявлены в ЦСК – 26 % и ГДК – 15 %; минимальное распространение фитоплазмоза ВN зафиксировано на виноградниках ЮБК – 1 % (рис. 2).

Первые единичные и слабо выраженные симптомы фитоплазмоза BN фиксировали на виноградниках сорта Шардоне с конца мая до середины июня (2018 г. – 30 мая; 2019 г. и 2020 г. – 14 июня) при прохождении виноградными растениями фенологических фаз «полное цветение» - «конец цветения» (по шкале BBCH – 65-69): поражённые побеги выделялись более светлой окраской листьев с краями, слегка направленными книзу. Отчётливые, а на отдельных участках и массовые признаки фитоплазмоза (пожелтение листьев и их скручивание, частичное или полное усыхание соцветий и т.д.) наблюдали на виноградных растениях сорта Шардоне с 3 декады июня, начиная с фенологических фаз развития «ягоды размером с горошину» - «начало формирования ягод в грозди» (по шкале BBCH -75–77).

Начальные симптомы почернения древесины на других сортах винограда (Алиготе, Пино нуар, Вердельо, Мальбек, Мерло, Бастардо, Бастардо магарачский, Кокур белый) отмечали позднее – с 1 декады июля, при прохождении фенологических фаз «начало и завершение формирования ягод в грозди» (по шкале ВВСН – 77–79), в виде изменения окраски листьев (пожелтения или покраснения), многочисленных тёмных пустул на коре побегов, повышенной гибкости побегов, недоразвитых гроздей и т.д. Со второй половины июля фиксировали симптомы ВN на участках сортов Каберне Совиньон и Траминер розовый.

Наиболее интенсивное проявление заболевания на всех инфицированных BN сортах наблюдали в

период созревания ягод винограда с 3 декады июля по сентябрь-октябрь (фенофазы «начало созревания ягод» – «полная спелость ягод», по шкале ВВСН – 81–89), в том числе в виде некроза листьев, увядания и усыхания гроздей, частичного или полного отсутствия вызревания поражённых побегов.

При обследовании виноградников светло-ягодного сорта Шардоне во второй половине сентября и начале октября наблюдали почернение (некроз) пораженных ВN побегов: от верхушки к основанию. На участке темно-ягодного сорта винограда Мальбек отмечали окрашивание больных побегов в светло- и темно-бордовые цвета.

Следует отметить, что возраст виноградников, на которых диагностировали фитоплазмоз ВN, колебался от 4 до 16 лет (от вступающих в плодоношение до плодоносящих), посадочный материал для этих участков был интродуцирован в основном из таких европейских стран как Италия, Франция и Сербия. Исключением являются два участка сортов винограда Вердельо и Алиготе на ЮБК, возраст которых уже превышает 30 лет.

За период наблюдений признаки фитоплазмоза наблюдали на виноградных насаждениях 11 технических сортов: Шардоне, Алиготе, Вердельо, Пино нуар, Бастардо, Бастардо магарачский, Каберне Совиньон, Мерло, Траминер розовый, Мальбек, Кокур белый. Положительные результаты молекулярно-генетической экспертизы к настоящему моменту имеются для 5 сортов винограда: Шардоне, Пино нуар, Бастардо, Алиготе, Вердельо.

Анализ трехлетних данных об интенсивности визуальных проявлений заболевания BN на изучаемых виноградниках показал, что наибольший уровень развития BN наблюдали в 2018 и 2019 гг., когда площадь участков с умеренным и эпифитотийным уровнем поражения растений суммарно составляла 79 и 67 % соответственно (табл. 2).

В условиях 2019 г. отмечена максимальная площадь виноградников с развитием ВN по типу эпифитотии – 59 %. Исходя из полученных данных, можно сказать, что агроклиматические условия 2020 г. были наименее благоприятными для развития изучаемого заболевания: в большинстве случаев фиксировали слабое и умеренное проявление на

винограде симптомов BN (41 и 38 % соответственно), эпифитотийное развитие заболевания отмечали на минимальной за годы исследований площади – 21 %.

Кроме наблюдений за проявлением фитоплазменной инфекции на виноградных растениях в 2018–2019 гг. при фитосанитарных обследованиях проводили осмотр сорной растительности на виноградниках, а также дикой растительности вокруг них с целью выявления признаков поражения фитоплазмозом и, соответственно, природных резерваций данного заболевания. К настоящему моменту явных (типичных) симптомов поражения сорной и дикой растительности фитоплазменной инфекцией не зафиксировано. Лабораторными исследованиями (ФГБУ «ВНИИКР») присутствие возбудителей фитоплазмоза в образцах растительного материала вьюнка Convolvulus sp., ластовня Vincetóxicum sp., ломоноса Clématis sp. и каперсов Capparis sp. не выявлено.

В данной статье представлены наиболее полные данные о распространении и идентификации фитоплазмоза BN на виноградниках Крыма относительно более ранних публикаций авторов [9, 11]. Результаты наблюдений за календарными сроками проявления различных симптомов фитоплазмоза с учётом фенологических фаз развития виноградных растений различных сортов винограда, а также сезонной динамикой поражения ВN, в целом согласуются с имеющейся в научной литературе информации по данным вопросам. Нашими исследованиями подтверждено, что и в условиях Крыма растения винограда сорта Шардоне проявляют наибольшую чувствительность к данному патогену. В перечень сортов винограда, проявляющих симптомы фитоплазмоза, вошли как классические, так и местные сорта (Кокур белый, Бастардо магарачский). Поротикова Е.В. с соавторами по результатам аналогичных исследований в Краснодарском крае РФ также наряду с классическими сортами указывает и местные сорта винограда (Августин, Юбилейный, Красностоп, Колобок) [10]. Отрицательные результаты исследований по выявлению инфекции в потенциальных растениях-резерватах фитоплазм скорее всего свидетельствуют о необходимости более масштабных и целенаправленных поисков, чем было возможно в рамках данной работы.

Выводы

На виноградниках основных технических сортов 4 виноградарских зон Крыма в 2018–2020 гг. для выполнения поставленных задач проводилось выявление, идентификация и изучение симптоматики и других особенностей развития фитоплазменного заболевания ВN. Установлено, что появление первых симптомов развития фитоплазмоза на виноградных растениях может варьировать в пределах 2 недель на фоне различных метеоусловий

года; в среднем – это 1–2 декада июня для наиболее чувствительного к данной инфекции сорта Шардоне. Максимальный уровень проявления BN на всех сортах фиксируется в августе-сентябре; после листопада отмечается частичный или полный некроз поражённых (не одревесневших) побегов. Составлен перечень сортов винограда, на которых в период вегетации выявлялись визуальные признаки BN, включающий 11 сортов; к настоящему моменту для 5 из них инфекция подтверждена ПЦР-анализом. Общая площадь виноградников с симптоматикой ВN, выявленных в процессе исследований, составляет 683 га (41 участок); на 16 участках (266 га) молекулярно-генетическим методом диагностирован возбудитель заболевания – Candidatus Ph. solani. Природных резерваций BN на сорной и дикой растительности вокруг виноградников исследованиями не выявлено. Отмечены существенные колебания интенсивности развития BN на виноградниках Крыма в разные годы: так умеренный и эпифитотийный уровни поражения превалировали в 2018 и 2019 гг. (45-59 % площади с симптомами BN), в условиях 2020 г. преобладал слабый уровень – 41 % площади с симптомами BN. Полученная информация в дальнейшем станет основой для создания информационной базы данных регионального уровня по данному заболеванию.

Ежегодное развитие заболевания по типу эпифитотии свидетельствует о серьезных экономических рисках для устойчивого виноградарства в Крыму на фоне продолжающейся широкой интродукции саженцев винограда, наличия потенциальных векторов фитоплазменной инфекции и учащения климатических стрессов. Результаты исследований свидетельствуют о необходимости мониторинга виноградных насаждений Крыма для лучшего понимания текущей ситуации с распространением фитоплазмоза BN, его влиянием на продуктивность и жизнеспособность виноградных растений. В круг исследовательских интересов следует также включить вопросы о роли представителей аборигенной и инвазийной цикадофауны в системе хозяин-патоген-вектор, а также разработке эффективной практики возделывания винограда.

Источник финансирования

Работа выполнена в рамках государственного задания Φ ГБУН «ВННИВиВ «Магарач» РАН» № 0833-2019-0011.

Financing source

The work was conducted within the framework of public assignment of the FSBSI Institute Magarach of the RAS No. 0833-2019-0011.

Конфликт интересов

Не заявлен.

Conflict of interests

Not declared.

Список литературы

- 1. Богоутдинов Д.З., Кастальева Т.Б., Гирсова Н.В., Самсонова Л.Н. Фитоплазменные болезни: исторический обзор к 50-летию открытия фитоплазмозов // Сельскохозяйственная биология. 2019;54(1):3-18. DOI 10.15389/agrobiology.2019.1.3rus.
- 2. Бондачук В., Хаустов Е. Фитоплазмоз виноградной лозы в Молдове. https://agroexpert.md/rus/agromenedzhment/fitoplazmoz-vinogradnoy-lozy-v-moldove (дата обращения: 18.04.2021).
- 3. Кастальева Т.Б., Богоутдинов Д.З., Боттнер-Паркер К.Д., Гирсова Н.В., Ли И.М. О разнообразии фитоплазмозов сельскохозяйственных культур в России: патогены и их переносчики // Сельскохозяйственная биология. 2016;51(3):367-375. DOI 10.15389/agrobiology.2016.3.367rus.
- 4. Богоутдинов Д.З., Гирсова Н.В., Кастальева Т.Б. Фитоплазменные болезни плодовых и ягодных культур в Центральном и Поволжском регионах России // Плодоводство и ягодоводство России. 2019;59:212-218. DOI 10.31676/2073-4948-2019-59-212-218.
- 5. Angelini E., Clair D., Borgo M., Bertaccini A., Boudon-Padieu E. Flavescence dorée in France and Italy occurrence of closely related phytoplasma isolates and their near relationships to Palatinate grapevine yellows and an alder yellows phytoplasma. Vitis. 2001;40(2):79-86. DOI 10.5073/vitis.2001.40.79-86.
- 6. Dermastia M., Bertaccini A., Constable F., Mehle N. Grapevine yellows diseases and their phytoplasma agents. Biology and Detection. Springer. 2017:1-99. DOI 10.1007/978-3-319-50648-7 5.
- 7. Dermastia M., Škrlj B., Strah R., Anžič B., Tomaž Š., Križnik M., Schönhuber C., Riedle-Bauer M., Ramšak Ž., Petek M., Kladnik A., Lavrač N., Gruden K., Roitsch T., Brader G., Pompe-Novak M. Differential response of grapevine to infection with '*Candidatus* Phytoplasma solani' in early and late growing season through complex regulation of mRNA and Small RNA transcriptomes. International Journal of Molecular Sciences. 2021;22(7):3531. DOI 10.3390/ijms22073531.
- 8. Национальный доклад о карантинном фитосанитарном состоянии территории Российской Федерации в 2019 году // Защита и карантин растений. 2020;7:9-19.
- 9. Bondarenko G.N., Bashkirova I.G., Aleynikova N.V., Radionovskaya Y.E. Monitoring of *'Candidatus* Phytoplasma solani' and "Flavescence Dorée" phytoplasma in South regions of the Russian Federation. Phytopathogenic Mollicutes. 2019;9(1):210-209. DOI 10.5958/2249-4677.2019.00105.1.
- 10. Porotikova E.V., Yurchenko E.G., Vinogradova S.V. First report of '*Candidatus* Phytoplasma solani' associated with Bois Noir on grapevine (*Vitis vinifera*) in Krasnodar Region of Russia. Plant Disease. 2019;104(1):277. DOI 10.1094/PDIS-03-19-0508-PDN.
- 11. Girsova N., Aleinikova N., Kastalyeva T., Radionovskaya Y., Bogoutdinov D. Phytoplasma disease «Bois Noir» in Crimea: diagnosis of the pathogen. BIO Web of Conferences 2020;25(4):06004. DOI 10.1051/bioconf/20202506004.
- 12. Мугол Хан Г.Н., Камаев И.О. Методические рекомендации по выявлению и идентификации возбудителя золотистого пожелтения винограда *Candidatus* Phytoplasma vitis (Flavescence dorée). Москва: ФГБУ «ВНИИКР». 2014:1-32.

- 13. Doyle J.J., Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus. 1990;12(1):15-13.
- 14. Deng S., Hiruki C. Amplification of 16 s ribosomal-rna genes from culturable and nonculturable mollicutes. Journal of Microbiological Methods. 1991;14(1):61-53. DOI 10.1016/0167-7012(91)90007-D.
- 15. Gibb K., Padovan A. A DNA extraction method that allows reliable PCR amplification of MLO DNA from «difficult» plant host species. PCR methods and applications. 1994;4(1):56-58. DOI 10.1101/rp.4.1.56.
- 16. Lorenz K.H., Schneider B., Ahrens U., Seemüller E. Detection of the apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification ribosomal and non-ribosomal DNA. Phytopathology. 1995;85(7):771-776. DOI 10.1094/Phyto-85-771.
- 17. National Center for Biotechnology Information. http://www.ncbi.nlm.nih.gov (дата обращения: 03.04.2021).

References

- 1. Bogoutdinov D.Z., Kastalyeva T.B., Girsova N.V., Samsonova L.N. Phytoplasma diseases: a review of 50 year history and current advances. Agricultural Biology. 2019;54(1):3-18. DOI 10.15389/agrobiology.2019.1.3rus (*in Russian*).
- 2. Bondarchuk V., Haustov E. Grapevine phytoplasmosis in Moldova. https://agroexpert.md/rus/agromenedzhment/fitoplazmoz-vinogradnoy-lozy-v-moldove (date of access: 18.04.2021) (in Russian).
- 3. Kastal'eva T.B., Bogoutdinov D.Z., Bottner-Parker K.D., Girsova N.V., Lee I.M. Diverse phytoplasmas associated with diseases in various crops in Russia pathogens and vectors. Agricultural Biology. 2016;51(3):367-375. DOI 10.15389/agrobiology.2016.3.367rus (*in Russian*).
- 4. Bogoutdinov D.Z., Girsova N.V., Kastalyeva T.B. Phytoplasmic diseases of fruit and small fruit crops in the Central and Volga regions of Russia. Pomiculture and Small Fruits Culture in Russia. 2019;59:212-218. DOI 10.31676/2073-4948-2019-59-212-218 (in Russian).
- 5. Angelini E., Clair D., Borgo M., Bertaccini A., Boudon-Padieu E. Flavescence dorée in France and Italy occurrence of closely related phytoplasma isolates and their near relationships to Palatinate grapevine yellows and an alder yellows phytoplasma. Vitis. 2001;40(2):79-86. DOI 10.5073/vitis.2001.40.79-86.
- 6. Dermastia M., Bertaccini A., Constable F., Mehle N. Grapevine yellows diseases and their phytoplasma agents. Biology and Detection. Springer. 2017:1-99. DOI 10.1007/978-3-319-50648-7 5.
- 7. Dermastia M., Škrlj B., Strah R., Anžič B., Tomaž Š., Križnik M., Schönhuber C., Riedle-Bauer M., Ramšak Ž., Petek M., Kladnik A., Lavrač N., Gruden K., Roitsch T., Brader G., Pompe-Novak M. Differential response of grapevine to infection with '*Candidatus* Phytoplasma solani' in early and late growing season through complex regulation of mRNA and Small RNA transcriptomes. International Journal of Molecular Sciences. 2021;22(7):3531. DOI 10.3390/ijms22073531.
- 8. National report on the quarantine phytosanitary condition of the territory of the Russian Federation in 2019. Plant Protection and Quarantine. 2020;7:9-19 (*in Russian*).
- 9. Bondarenko G.N., Bashkirova I.G., Aleynikova N.V., Radionovskaya Ya.E. Monitoring of *'Candidatus* Phytoplasma solani' and "Flavescence Dorée" phytoplasma in South regions of the Russian Federation.

- Phytopathogenic Mollicutes. 2019;9(1):210-209. DOI 10.5958/2249-4677.2019.00105.1.
- 10. Porotikova E.V., Yurchenko E.G., Vinogradova S.V. First report of '*Candidatus* Phytoplasma solani' associated with Bois Noir on grapevine (*Vitis vinifera*) in Krasnodar Region of Russia. Plant Disease. 2019;104(1):277. DOI 10.1094/PDIS-03-19-0508-PDN.
- 11. Girsova N., Aleinikova N., Kastalyeva T., Radionovskaya Y., Bogoutdinov D. Phytoplasma disease «Bois Noir» in Crimea: diagnosis of the pathogen. BIO Web of Conferences. 2020;25(4):06004. DOI 10.1051/bioconf/20202506004.
- 12. Mugol Khan G.N., Kamaev I.O. Methodological recommendations for identifying causative agent of grapevine flavescence dorée phytoplasma *Candidatus* Phytoplasma vitis (Flavescence dorée). Moscow: FGBU "VNIIKR". 2014:1-32 (in Russian).

- 13. Doyle J.J., Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus. 1990;12(1):15-13.
- 14. Deng S., Hiruki C. Amplification of 16 s ribosomal-rna genes from culturable and nonculturable mollicutes. Journal of Microbiological Methods. 1991;14(1):61-53. DOI 10.1016/0167-7012(91)90007-D.
- 15. Gibb K., Padovan A. A DNA extraction method that allows reliable PCR amplification of MLO DNA from «difficult» plant host species. PCR methods and applications. 1994;4(1):56-58. DOI 10.1101/rp.4.1.56.
- 16. Lorenz K.H., Schneider B., Ahrens U., Seemüller E. Detection of the apple proliferation and pear decline phytoplasmas by PCR amplification ribosomal and non-ribosomal DNA. Phytopathology. 1995;85(7):771-776. DOI 10.1094/Phyto-85-771.
- 17. National Center for Biotechnology Information. http://www.ncbi.nlm.nih.gov (date of access: 03.04.2021).

Информация об авторах

Яна Эдуардовна Радионовская, канд. с.-х. наук, ст. науч. сотр., вед. науч. сотр. лаборатории защиты растений; е-мейл: vovkayalta@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-9124-8436:

Наталья Васильевна Алейникова, д-р с.-х. наук, зам. директора по науч. работе, ст. науч. сотр., гл. науч. сотр. лаборатории защиты растений; е-мейл: aleynikova@magarachinstitut.ru; https://orcid.org/0000-0003-1167-6076;

Галина Николаевна Бондаренко, канд. биол. наук, ст. науч. сотр., начальник испытательного лабораторного центра Всероссийского центра карантина растений, ст. преп. Aграрно-технологического института РУДН; е-мейл: reseachergm@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-3826-1009;

Баирта Борисовна Хамаева, зав. лабораторией сорных растений, аспирант; е-мейл: airta@mail.ru; https://orcid.org/0000-0003-2923-5762;

Елена Александровна Болотянская, науч. сотр. лаборатории защиты растений; e-мейл: saklina@rambler.ru; https://orcid.org/0000-0003-2218-8019;

Сергей Юрьевич Белаш, мл. науч. сотр. лаборатории защиты растений; e-мейл: mithr2441@mail.ru; https://orcid.org/0000-0001-7422-6588.

Information about authors

Yana E. Radionovskaya, Cand. Agric. Sci., Senior Staff Scientist, Leading Staff Scientist, Laboratory of Plant Protection; e-mail: vovkayalta@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-9124-8436;

Natalia V. Aleinikova, Dr. Agric. Sci., Deputy Director for Science, Senior Staff Scientist, Chief Staff Scientist, Laboratory of Plant Protection; e-mail: aleynikova@magarach-institut.ru; https://orcid.org/0000-0003-1167-6076;

Galina N. Bondarenko, Cand. Biol. Sci., Senior Staff Scientist, Head of the Testing Laboratory Centre, All-Russian Center for Plant Quarantine; Assistant Professor of Agrarian and Technological Institute, RUDN; e-mail: reseachergm@mail.ru; https://orcid.org/0000-0002-3826-1009;

Bairta B. Khamaeva, Head of the Weed Plant Laboratory, Postgraduate student; e-мейл: airta@mail.ru; https://orcid.org/0000-0003-2923-5762;

Elena A. Bolotianskaia, Staff Scientist, Laboratory of Plant Protection; e-mail: saklina@rambler.ru; https://orcid.org/0000-0003-2218-8019:

Sergey Yu. Belash, Junior Staff Scientist, Laboratory of Plant Protection; e-mail: mithr2441@mail.ru; https://orcid.org/0000-0001-7422-6588.

Статья поступила в редакцию 08.11.2023, одобрена после рецензии 15.11.2023, принята к публикации 22.11.2023.