

*На правах рукописи*

**АХАНАЕВ**  
**Юрий Баторович**

**Популяционная структура лугового  
мотылька и пути совершенствования  
прогноза его численности**

Шифр и наименование специальности:  
06.01.07 – Защита растений

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени кандидата  
биологических наук

Санкт-Петербург  
2014

Работа выполнена в Государственном научном учреждении Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВИЗР Россельхозакадемии)

**Научный руководитель:** **Фролов Андрей Николаевич**  
доктор биологических наук, профессор, зав. лабораторией сельскохозяйственной энтомологии Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений

**Официальные оппоненты:** **Радченко Евгений Евгеньевич**  
доктор биологических наук, зав. отделом генетики ГНУ ВНИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова

**Семенова Алла Георгиевна**  
кандидат биологических наук, доцент кафедры фитопатологии и энтомологии Санкт-Петербургского государственного аграрного университета

**Ведущая организация:** Российский Государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева

Защита диссертации состоится «16» октября 2014 года в часов на заседании диссертационного совета Д 006.015.01 на базе Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений по адресу: 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, шоссе Подбельского, д.3.

Факс: (812) 4705110; e-mail: vizrspb@mail333.com,

Web-сайт: vizr.spb.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Всероссийского научно-исследовательского института защиты растений.

Автореферат разослан « » 2014 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат биологических наук

Наседкина Галина Анатольевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

*Актуальность темы.* Луговой мотылек *Loxostege sticticalis* L. (Pyraloidea, Crambidae) – особо опасный вредитель, которому присущи широкая многоядность, способность к дальним миграциям, агрегированность пространственного распределения (Трибель, 1989; Алехин, 2002; Фролов и др., 2008). Во время всплеск массового размножения, зачастую неожиданных, луговой мотылек способен наносить колоссальный ущерб сельскохозяйственным культурам, что уже происходило в 30-х и 70-х годах прошлого века. Качественное улучшение организации и планирования защитных мероприятий может быть достигнуто лишь путем повышения точности прогнозов, улучшение которых требует глубокого изучения особенностей популяционной структуры вредного объекта.

*Степень разработанности темы исследования.* Несмотря на более чем двухсотлетний период истории борьбы с луговым мотыльком, его трудно назвать хорошо изученным объектом. Так, отсутствие детальной информации о структуре популяций вредителя препятствует пониманию закономерностей возникновения всплеск его массового размножения. Безусловно, новые сведения об особенностях популяционной экологии лугового мотылька окажутся полезными для фитосанитарного районирования его ареала и выделения зон, в пределах которых с той или иной вероятностью могут возникать очаги массового размножения, что несомненно будет способствовать совершенствованию мониторинга этого особо опасного сельскохозяйственного вредителя.

*Цель работы* состояла в изучении внутри- и межпопуляционной изменчивости лугового мотылька, генетической структуры его популяций в связи с эффектами ведущих экологических факторов, что является необходимым условием совершенствования принципов и подходов к прогнозированию массовых размножений вредителя.

В соответствии с поставленной целью решали следующие задачи:

- 1) Оценить уровень внутри- и межпопуляционной изменчивости лугового мотылька в ареале по результатам оценки полиморфизма нуклеотидной последовательности фрагмента гена 1 субъединицы цитохром оксидазы *cox1* мтДНК;
- 2) Охарактеризовать изменчивость фотопериодической реакции (ФПР) лугового мотылька в сезоне в зависимости от популяционной принадлежности насекомых;
- 3) Выявить характер воздействия температур на развитие и выживаемость прониmf лугового мотылька в постдиапаузный период;
- 4) Охарактеризовать влияние облигатных и факультативных патогенных микроорганизмов на размножение лугового мотылька и оценить их перспективность как предикторов для прогноза динамики численности вредителя;
- 5) Провести фитосанитарное районирование ареала лугового мотылька на территории России и сопредельных стран по агроклиматическим предикторам с использованием ГИС-инструментов.

*Научная новизна.* Впервые проведено генотипирование лугового мотылька по SNP-локусам гена первой субъединицы митохондриальной цитохром оксидазы *cox1*, которое свидетельствует об отсутствии существенной сегрегации выборок насекомых, удаленных друг от друга на расстояния до 6000 км.

Отличаются новизной сведения, характеризующие сезонно-циклические адаптации лугового мотылька в ареале. В частности, нами не обнаружено статистически достоверных различий по ФПР у насекомых, обитающих на западе (Краснодарский край,

Ростовская область) и востоке (Бурятия, Китай) ареала, при пороге, близком к 14 час 30 мин.

Получены новые данные, характеризующие влияние температур на выживаемость диапаузирующих пронимф лугового мотылька; в частности, показано, что температуры зимовки +20...+25 °С не вызывают существенно более высокой смертности насекомых, а лишь растягивают и замедляют реактивацию насекомых.

Впервые проведено картирование распространения лугового мотылька в ареале при помощи ГИС–инструментов с использованием агроклиматических предикторов: созданы карты районирования территории бывшего СССР на зоны, в пределах которых 1) осуществляется устойчивое развитие от 1 до 4 последовательных генераций в сезоне, и 2) с той или иной вероятностью ожидается формирование очагов массового размножения вредителя.

*Теоретическая и практическая значимость.* Получены новые данные об эколого-генетической структуре популяций лугового мотылька. В частности, с помощью молекулярно-биологических методов доказано единообразие генетической структуры насекомого, а результаты лабораторных экспериментов по оценке ФПР подтверждают отсутствие существенной эколого-физиологической сегрегации вредителя в ареале.

Отличаются новизной полученные в лаборатории, данные, характеризующие уровень выживаемости диапаузирующих гусениц при воздействии разных температур во время перезимовки, а также влияние облигатных и факультативных энтомопатогенных микроорганизмов на выживаемость лугового мотылька как в полевых, так и лабораторных условиях.

Благодаря применению ГИС-технологий осуществлено районирование ареала лугового мотылька на области, в пределах которых условия в той или иной степени благоприятствуют возникновению очагов размножения лугового мотылька, что имеет важное значение для прогноза и организации мер борьбы с этим особо опасным вредителем сельскохозяйственных культур.

*Методология и методы исследования.* Для анализа особенностей популяционной структуры лугового мотылька использовали систему традиционных и современных методов и подходов. К традиционным методическим подходам можно отнести ручной сбор живого материала в природных условиях, культивирование насекомых в лаборатории (в том числе на ИПС), оценку влияния фотопериода и температур на развитие насекомых в камерах с регулируемым климатом, стандартные методы выращивания грибов, световую микроскопию и оценку гибели насекомых от патогенных микроорганизмов в полевых и лабораторных условиях. В категорию современных методических подходов вошли молекулярно-биологические методы (экстракция, амплификация, электрофорез, клонирование и секвенирование ДНК), биоинформационный и статистический анализ, а также применение ГИС-технологий с использованием программных продуктов MapInfo и Idrisi32.

*Положения, выносимые на защиту*

- 1) Несмотря на весьма высокий уровень внутривидовой изменчивости, луговому мотыльку присуще единообразие эколого-генетической популяционной структуры в ареале, что обусловлено с одной стороны высокой миграционной активностью имаго, а с другой стороны – адаптацией к специфическому диапазону значений погодноклиматических факторов, характерному для степной зоны.
- 2) Карты распространения лугового мотылька на территории России и сопредельных стран с разделением на области с устойчивым развитием от одного до четырех последовательных генераций вредителя в сезоне и фитосанитарного районирования,

с выделением зон, различающихся по степени их благоприятности для возникновения там очагов массового размножения вредителя.

*Степень достоверности и апробация результатов.* Достоверность полученных данных доказывает высокая степень воспроизводимости результатов экспериментов, сходимость средних оценок показателей популяционной структуры в выборках насекомых, собранных в разных географических точках ареала, включая полученные из-за рубежа (Китай), и достоверностью оценок, полученных в ходе осуществления стандартных статистических процедур.

Материалы диссертационной работы были доложены на заседаниях методической комиссии ВИЗР по энтомологии (Санкт-Петербург - Пушкин, 2011-2013), отчетно-плановой сессии ученого совета ВИЗР (Санкт-Петербург - Пушкин, 2012), научной конференции профессорско-преподавательского состава СПбГАУ (Санкт-Петербург - Пушкин, 2013), XIV Съезде Русского энтомологического общества (Санкт-Петербург, 2012) и III Съезде по защите растений (Санкт-Петербург - Пушкин, 2013).

По материалам исследований опубликовано 8 работ, включая 4 статьи в рецензируемых изданиях (3 в журнале Энтомологическое обозрение и 1 – Вестнике защиты растений).

*Структура и объем диссертации.* Диссертационная работа изложена на 132 стр. машинописного текста, состоит из введения, 6 глав, выводов и практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 15 таблицами и 36 рисунками. Список литературы включает 319 источников, из них 117 на иностранных языках.

*Благодарности.* Я глубоко признателен моему научному руководителю А.Н. Фролову за терпение и отзывчивость, за ценные методические советы и консультации в течение всего периода подготовки диссертации, благодарю сотрудников ВИЗР Ю.М. Мальщ, Ю.С. Токарева, М.Н. Берим за поддержку и помощь в проведении работ и за сбор энтомологического материала, за помощь разведения живого материала. За помощь в работе с энтомопатогенными гифомицетами выражаю глубокую признательность Г.Р. Ледневу и М.В. Левченко. Также хочу поблагодарить зав. лаб. экспериментальной энтомологии и теоретических основ биометода ЗИН РАН С.Я. Резника, проф. каф. энтомологии СПбГУ А.Х. Саулич за предоставленную возможность проведения лабораторных экспериментов, искреннюю благодарность за помощь при составлении карт выражаю ст. научн. сотруднику СПбГУ А.Н. Афонину и вед. научн. сотруднику ВИЗР М.И. Сауличу.

Данная работа была выполнена при частичной финансовой поддержке грантами РФФИ № 12-04-91174-ГФЕН\_а «Изучение экологических аспектов диапаузы и миграций лугового мотылька *Loxostege sticticalis* в приграничном регионе России и Китая» и № 12-04-00552-а «Регулирующие факторы в многолетней динамике численности растительноядных насекомых», за что Российскому Фонду Фундаментальных Исследований выражается глубокая признательность.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Глава 1 Обзор литературы

В главе приводится анализ литературных данных, характеризующих особенности биологии, распространения, динамики численности и принципов мониторинга и технологий прогноза массовых размножений лугового мотылька.

### Глава 2 Методология

#### 2.1 Условия, материал и методы исследований

Материалом для исследований послужили сборы гусениц и имаго лугового

мотылька, осуществленные в разных частях его ареала, в т.ч. в Бурятии, Забайкальском и Краснодарском краях, Новосибирской, Воронежской, Ростовской областях, а также Китайской Народной Республике.

Молекулярно-биологический анализ проводили в несколько этапов: пробоподготовка, экстракция ДНК (Sambrook et. al., 1989), диагностика на основе ПЦР (амплификация ДНК), секвенирование (нуклеотидные последовательности определяли на автоматическом секвенаторе *AbiPrism*). Биоинформационный анализ проводили при помощи приложений *Bioedit* (Hall, 1999), *DnaSP 5.1* (Librado, Rozas, 2009).

Опыты по изучению ФПР проводили по известной методике (Саулич и др., 1983; Горышин и др., 1980) в лаборатории эволюционной и физиологической экологии насекомых СПбГУ и в лаборатории экспериментальной энтомологии и теоретических основ биометода ЗИН РАН. Гусениц ростовской популяции содержали в режимах от 12 до 18 ч света в сутки и постоянной температуре 25°C и 20°C. Насекомых из Бурятии тестировали при тех же фотопериодах и температурах 25°C и 19°C. С особями из Краснодарского края и Китая опыты проводились только при одной постоянной температуре 25°C с использованием того же диапазона фотопериодов. В каждом варианте прослеживали индивидуальную судьбу каждой гусеницы вплоть до вылета имаго в случае активного развития или остановки развития его на стадии прониимфы в случае диапаузы. Критерием наступления диапаузы служило отсутствие вылета имаго в течение месяца после формирования прониимф (Саулич и др., 1983). По истечении этого срока коконы вскрывали и учитывали только живых особей. Количество диапаузирующих прониимф (%) подсчитывали от общего числа живых насекомых (вылетевших имаго и диапаузирующих прониимф).

Для проведения экспериментов по оценке воздействия температур на выживаемость прониимф лугового мотылька насекомых выращивали в условиях, способствовавших индукции диапаузы: температуре 20–22 °C и длине дня 12 ч света в сутки (Данилевский, 1961; Горышин и др., 1980; Саулич и др., 1983). По завершении питания контейнеры с диапаузирующими прониимфами (всего 30 контейнеров, от 10 до 25 особей в каждом) были случайным образом распределены по 5 вариантам опыта. Различия между 5 режимами заключались в температуре во время первых 30 дней экспозиции диапаузирующих прониимф: 5, 10, 15, 20 или 25 °C, при этом длина дня (12 ч света в сутки) была одинакова во всех вариантах. Затем проводили первую «пробу на реактивацию», для чего все контейнеры в течение 30 дней хранили при 20 °C, а затем подсчитывали вылетевших имаго (рис. 1). После этого наступал этап «зимовки» (весь материал был на 30 дней помещен в холодильник с 5 °C), после чего проводили вторую «пробу на реактивацию» (еще 30 дней экспозиции при 20 °C), по завершении которой проводили окончательный подсчёт вылетевших имаго, а также оставшихся живых и мертвых куколок и прониимф.

Для каждого контейнера определяли процентную долю имаго, вылетевших к моменту первого и второго учёта, а также долю живых и погибших куколок и прониимф, отмеченных во время второго учёта (живые куколки считались активно развивающимися особями, а живые прониимфы – диапаузирующими).

Светомикроскопическая диагностика энтомопатогенов лугового мотылька была проведена в лаборатории микробиологической защиты ВИЗР. Диагностику спор микроспоридий осуществляли методом световой микроскопии (Воронин, Исси, 1974; Токарев и др., 2004, 2009, 2012б) при помощи микроскопа *Imager M1* (Carl Zeiss).

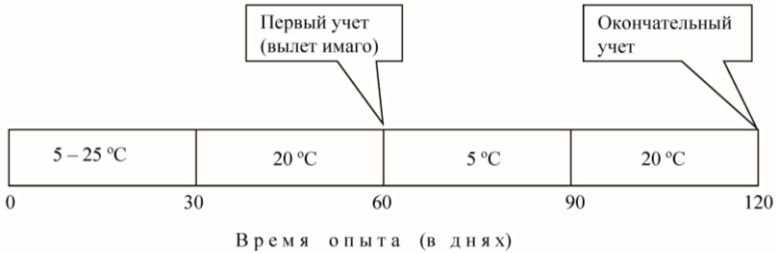


Рисунок 1 Схема проведения опыта по оценке влияния температуры на выживаемость диапаузирующих гусениц и их реактивацию

Для выявления грибных патогенов применяли стандартные методы микологических исследований (проращивание во влажной камере, выделение в чистую культуру, световую микроскопию). Для филогенетических построений использовали пакеты приложений PAUP\* (Swofford, 2003) и MrBayes (Ronquist, Huelsenbeck, 2003).

### Результаты исследований

#### Глава 3 Изучение генетической структуры популяций лугового мотылька в ареале

Всего проанализировано 169 особей (имаго) лугового мотылька по гену митохондриальной ДНК первой субъединицы цитохром оксидазы (*cox1*) (рис.2), собранных в 9 точках ареала (5 из европейской и 4 – азиатской частей).

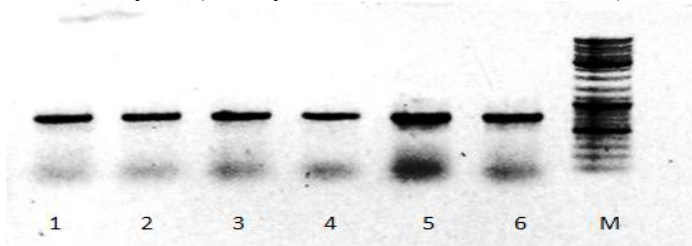


Рисунок 2 Электрофореграмма продуктов амплификации образцов ДНК лугового мотылька (1-6) с праймерами, LepF1+LepR1, M – маркер молекулярного веса

В результате оказалось, что однонуклеотидный полиморфизм в популяциях лугового мотылька представлен 27 уникальными гаплотипами, различия между которыми заключаются в транзициях – от одной до трех замен SNP-сайтов в пределах элаймента, протяженностью 480 нуклеотидных оснований.

Только 6 из 27 гаплотипов лугового мотылька встречались в популяциях больше одного раза, а 21 гаплотип был представлен в выборках лишь однократно. При этом наиболее распространенный гаплотип А обнаружил встречаемость на уровне 51%, его доля среди образцов, составляющих отдельные географические выборки, колебалась от 33 до 74%. Второй и третий по частотам встречаемости гаплотипы В и С составляли 18% и 12% от общей выборки, соответственно. Эти три гаплотипа были выявлены в каждой из проанализированных географических популяций. Еще три гаплотипа (В-Г) имели частоту встречаемости 2-3%. Каждый из них был обнаружен только в 3-4 из девяти выборок, причем гаплотип Д обнаруживался лишь на Юго-Западе России (Гигант,

Ботаника, Слободка). Общая доля уникальных гаплотипов составила 12%, причем в разных популяциях их частота колебалась от 4 (Хебей) до 24% (Воронеж) (рис.3).

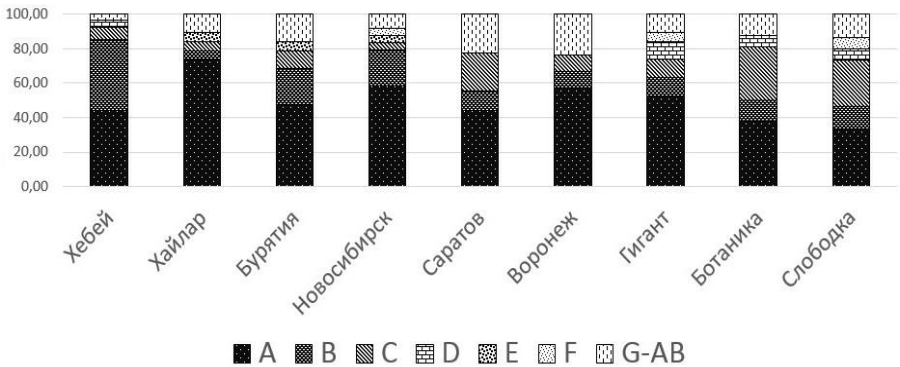


Рисунок 3 Распределение молекулярных гаплотипов *cox1* мтДНК лугового мотылька в выборках из девяти географических пунктов. Гаплотипы обозначены латинскими буквами, группа G-AB включает уникальные гаплотипы, каждый из которых встречался во всей выборке (N=169) не более одного раза

Количественная оценка генетического полиморфизма представлена в таблице 1, наименьший уровень которого обнаружен в сборах в Хайлар (Китай), хотя в соседних регионах (Хебей, Бурятия) этот показатель оказался немного выше. Любопытно, что максимальный уровень полиморфизма обнаружился в популяциях из Краснодарского края (Ботаника, Слободка). Также следует отметить высокое его значение для популяции из Саратовской обл. В целом у лугового мотылька, как вида, генетический полиморфизм оценивается величиной  $0,696 \pm 0,033$ , т.е. этому объекту свойственно высокое внутривидовое генетическое разнообразие (Малыш и др., 2012).

Таблица 1 Оценки генетического полиморфизма в географических популяциях лугового мотылька по локусу *cox1* мтДНК

Популяция	Кол-во сиквенсов в выборке	Число полиморфных сайтов	Кол-во уникальных гаплотипов	Генетический полиморфизм $\pm$ станд. откл.
Хебей	27	4	5	$0,652 \pm 0,056$
Хайлар	19	5	6	$0,467 \pm 0,140$
Бурятия	19	10	7	$0,748 \pm 0,088$
Новосибирск	24	6	7	$0,634 \pm 0,097$
Саратов	9	4	5	$0,805 \pm 0,120$
Воронеж	21	8	8	$0,676 \pm 0,111$
Гигант	19	6	7	$0,719 \pm 0,104$
Ботаника	16	6	6	$0,783 \pm 0,072$
Слободка	15	6	7	$0,838 \pm 0,068$
Итого:	169			$0,696 \pm 0,033$

Для количественной оценки степени генетической дифференциации между популяциями использовали показатели NST (Lynch, Crease, 1990) и FST (Hudson et. al., 1992) (для оценки дифференциации использовали программу DnaSP 5.1). Несмотря на высокое внутривидовое разнообразие молекулярных гаплотипов по локусу *cox1*, в целом их распределение в пространстве носило равномерный характер. Так, оценки генетической дифференциации между наиболее удаленными друг от друга популяциями,



например, из Хайлара (Китай) и Гиганта (Ростовская обл.), Бурятии и Слободки (Краснодарский край) оказались равны нулю, а среднее значение NST и FST от попарных сравнений популяций лугового мотылька между собой составило лишь 0,02.

С другой стороны, регрессионный анализ свидетельствует о пусть и слабой, но высоко достоверной ( $R = 0,376$ ,  $p=0,02$ ) связи между FST и расстоянием между географическими точками, где собирали насекомых. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что 1) луговой мотылек обнаруживает высокий уровень внутривидового генетического полиморфизма, 2) пространственное распределение гаплотипов лугового мотылька, прослеженное на расстояниях около 6000 км, в целом отличается равномерностью, что предполагает единообразие эколого-генетической структуры популяций насекомого по крайней мере на большей части ареала, 3) достоверность связи между генетической структурой насекомых и расстоянием между пунктами сбора насекомых дает основание предполагать, что в процессе миграции в популяциях лугового мотылька происходят определенные генетические изменения, возможный адаптивный характер которых должен стать предметом дальнейших исследований.

#### **Глава 4 Адаптации лугового мотылька к сезонно-циклическим изменениям климата**

##### **4.1 Лабораторные эксперименты по изучению фотопериодической реакции лугового мотылька**

По процентам диапаузирующих пронимф были построены кривые ФПР для четырех популяций лугового мотылька (рис. 4). Результаты свидетельствуют о том, что температура (в охваченных экспериментами пределах) не оказывала существенного влияния на ход кривых ФПР. Небольшое увеличение тенденции к диапаузе при повышении температуры от 19 до 25°C обнаружено у насекомых из Бурятии, тогда как у особей из Ростовской обл. значение критического фотопериода при температурах 20°C и 25°C оставалось практически неизменным.

Сделан вывод, что для популяций из Ростовской области, Краснодарского края, Бурятии и Китая, ФПР не имеет какой-либо существенной изменчивости в зависимости от широты и долготы – критическое значение находилось между 14 и 15 часами.

Полученные материалы согласуются с известными данными (Саулич и др., 1983; Саулич, 1986, 2009; Huang Shao-Hong et. al., 2009), согласно которым критическая длина дня для лугового мотылька оценивается 14-13 часами в диапазоне 18-30°C, и свидетельствуют об отсутствии существенной географической вариации ФПР насекомых как в России, так и в Китае. Эти данные свидетельствуют также в пользу гипотезы о приуроченности очагов размножения лугового мотылька к зоне степей, откуда идет экспансия вредителя в периоды подъемов численности. Поэтому на большей части ареала (севернее степей) луговой мотылек, вероятно, может быть представлен лишь временными популяциями, не способными постоянно поддерживать свою численность без притока мигрантов из южных степных районов (особенно в периоды депрессий).

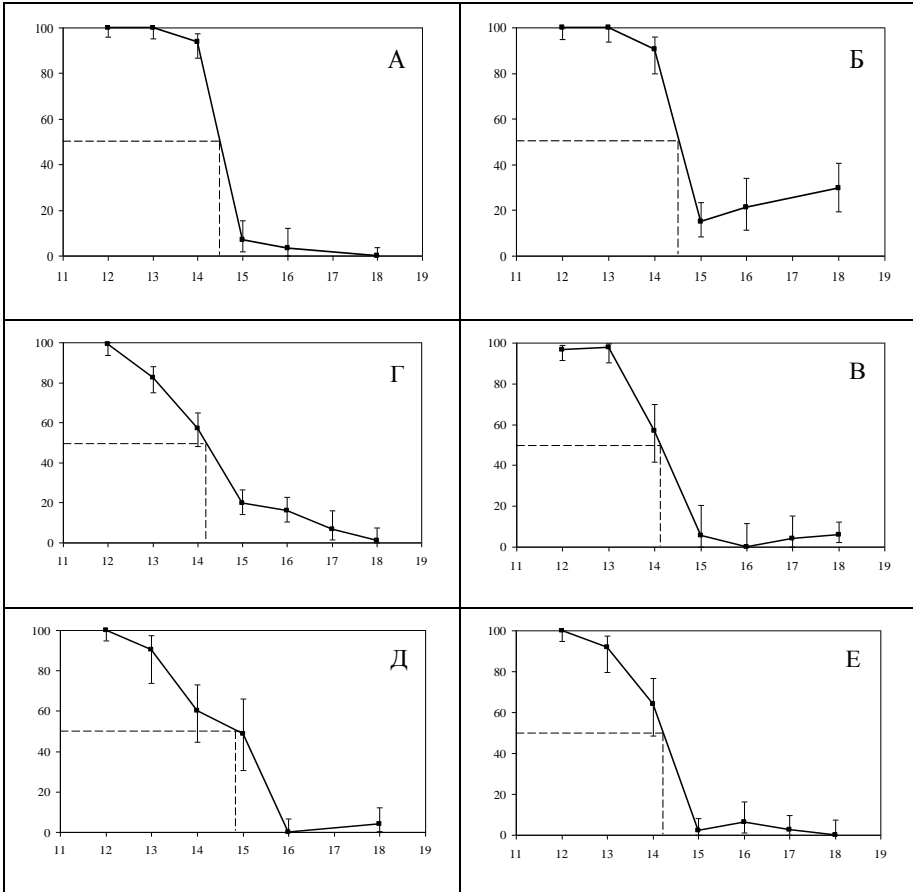


Рисунок 4 Фотопериодическая реакция разных географических популяций лугового мотылька. По оси абсцисс: длина дня, часы; по оси ординат: диапаузирующие прониимфы, % и 95% доверительные интервалы. Варианты опытов: А – насекомые из Ростовской обл., 25°C; Б – оттуда же, 20°C; В – из Бурятии, 25°C; Г – оттуда же, 19°C; Д – из Краснодарского края, 25°C; Е – из Китая, 25°C. Пунктир: длина дня, при которой отмечена диапауза 50% особей в выборке

#### 4.2 Оценка воздействия температур на выживаемость лугового мотылька во время и после завершения диапаузы

Дисперсионный анализ показал, что совокупная доля живых и активно развивающихся особей (куколок и имаго) не зависела от варианта опыта ( $df = 4$ ,  $F = 1.5$ ,  $n = 30$ ,  $p = 0.229$ ). Однако размеры фракций имаго, вылетевших к моменту первого учёта и между первым и вторым учётами, не сильно, но статистически достоверно зависели от температурного режима ( $df = 4$ ,  $F = 2.8$ ,  $n = 30$ ,  $p = 0.048$  и  $df = 4$ ,  $F = 3.2$ ,  $n = 30$ ,  $p = 0.032$  для первого и второго учётов, соответственно).

Как видно на рис. 5, оба показателя были выше у особей, на протяжении первого месяца опыта хранившихся при 5 °С. Хотя попарные сравнения этого варианта с другими

(тест Тьюки) не всегда выявляли достоверные различия, доля вылетевших имаго в варианте с 5 °С была достоверно больше, чем в сумме вариантов с температурами 10 – 25 °С, как ко времени первого учёта ( $df = 1, F = 5.8, n = 30, p = 0.023$ ), так и между первым и вторым учётами ( $df = 1, F = 5.5, n = 30, p = 0.027$ ) и по общей процентной доле вылетевших имаго ( $df = 1, F = 14.4, n = 30, p = 0.001$ ). Доля живых куколок, обнаруженных во время второго учёта, после экспозиции при 5 °С, напротив, была меньше, чем в совокупности остальных вариантов ( $df = 1, F = 26.2, n = 30, p < 0.001$ ). При этом различие в общей доле живых активно развивающихся особей между вариантом с 5 °С и совокупностью остальных вариантов не доказывалось при 5% уровне значимости ( $df = 1, F = 1.2, n = 30, p = 0.290$ ). Что же касается доли живых проницеф, не вышедших из состояния диапаузы к моменту второго учёта, то по результатам дисперсионного анализа зависимость этого показателя от варианта опыта также статистически достоверно доказать не удалось ( $df = 4, F = 1.5, n = 30, p = 0.226$ ). Впрочем, в совокупности «низкотемпературных» вариантов 5, 10 и 15 °С доля диапаузирующих особей была достоверно ( $df = 1, F = 6.4, n = 30, p = 0.017$ ) ниже, чем в совокупности «высокотемпературных» вариантов 20 и 25 °С.

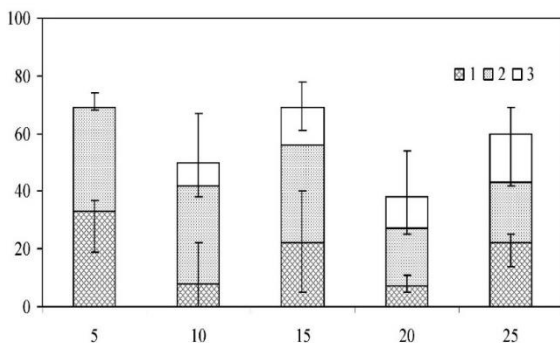


Рисунок 5 Влияние температурного режима на окукливание и вылет имаго лугового мотылька. По оси абсцисс – температура во время первой экспозиции, °С. По оси ординат: 1 – доля имаго, вылетевших к моменту первого учёта, %, медианы и квартили, 2 – доля имаго, вылетевших за период между первым и вторым учётами, %, медианы, 3 – доля особей, окуклившихся, но не вылетевших к моменту второго учёта, %, медианы и квартили

Полученные результаты показали чрезвычайно высокую термотолерантность диапаузирующих проницеф лугового мотылька, хотя, как и следовало ожидать (Саулич, 1999; Jiang et al., 2010), наиболее дружная реактивация была отмечена при 5 °С. Даже очень значительные отклонения от этой температуры не снижали долю особей, выходящих из диапаузы к концу опыта и не приводили к достоверному росту смертности.

Таким образом, можно заключить, что южная граница ареала лугового мотылька определяется, по всей видимости, не высокими зимними температурами, а иными факторами, возможно высокими летними температурами и/или низкой увлажненностью.

## Глава 5 Энтомопатогенные микроорганизмы и их влияние на динамику численности лугового мотылька

### 5.1 Облигатные паразиты - микроспоридии

Текущая вспышка массового размножения лугового мотылька в России началась в 2008 г. в Восточной Сибири и на Дальнем Востоке (Буханистая, Поздышева, 2009; Домчук, Положиева, 2009). В 2009 г. заселенная насекомым площадь продолжала нарастать, помимо Дальнего Востока и Восточной Сибири вредитель в больших количествах обнаруживался и в Западной Сибири (Красноярском и Алтайском краях, Новосибирской, Кемеровской, Омской и Томской областях, Хакасии) (Фролов, 2011). В

2010 г. вредитель отмечался в Уральском, Поволжском и Центральном ФО РФ, и лишь к концу 2010 г. область его массового размножения достигла юга Европейской части РФ.

В 2009 г. сбор имаго и коконов лугового мотылька проводили в местах массового размножения насекомого в Сибири и на Дальнем Востоке. Результаты анализа содержимого коконов (табл. 2) свидетельствуют, что природные факторы смертности в первый год вспышки массового размножения могут и не оказывать существенного влияния на численность насекомого (как в Иркутской обл.), но уже на втором году они весьма значительно снижают потенциал его размножения (Амурская обл., Забайкальский край).

Таблица 2 Результаты анализа смертности коконов лугового мотылька из сборов 2009 г. (Дальний Восток, Восточная Сибирь России)

Район сбора	Время сбора	Мертвые гусеницы, %	Паразиты гусениц, %	Мертвые куколки, %	Вылетело имаго, %
Амурская обл., Благовещенск	май 2009	52,0	8,0	10,0	30,0
Забайкальский край, Читинский р-н	июнь 2009	36,0	22,0	0	42,0
Республика Бурятия, Заиграевский р-н	июнь 2009	8,0	12,0	18,0	62,0
Иркутская область, Иркутский р-н	май 2009	0	8,0	4,0	88,0

Так, из сборов 2009 г. (Китай) нами было обнаружено всего 2 имаго, зараженных микроспоридиями. Такой низкий уровень заражения можно связать с тем, что в период сбора насекомые находились в фазе подъема численности. Результаты многолетних наблюдений свидетельствуют, что влияние микроспоридий на динамику численности фитофага в период пика его массового размножения не существенно, но резко возрастает во время снижения численности, поэтому уровень зараженности этими облигатными паразитами может быть использован в прогнозе лугового мотылька (Малыш и др., 2013).

## 5.2 Факультативные паразиты - энтомопатогенные гифомицеты

### Молекулярная филогения штаммов рода *Beauveria*

В работе использовали следующий набор штаммов энтомопатогенных гифомицетов:

Таблица 3 Штаммы энтомопатогенных грибов, использованные в настоящей работе

Штамм	Географическое происхождение	Хозяин
GUSB1	Заиграевский р-н, Республика Бурятия	<i>Loxostege sticticalis</i>
GUSB2	там же	тот же
GUSB3	-«-	-«-
GUSB4	-«-	-«-
Вкук	п. Ботаника, Краснодарский край	<i>Ostrinia nubilalis</i>
KTX	г. Темрюк, Краснодарский край	<i>Ostrinia scapularis</i>
KTX3	там же	тот же
SX	х. Слободка, Краснодарский край	-«-
Zcm/w	Забайкальский край, Черновские копи	<i>Ostrinia</i> sp.

С целью идентификации грибных штаммов, выделенных из чешуекрылых, проводили сравнение морфо-культуральных признаков и нуклеотидных последовательностей гена *tef* (translation elongation factor). Большинство штаммов оказались однотипными по макроморфологии. Несмотря на ярко выраженные отличия по морфо-культуральным свойствам между группами штаммов, дифференцировать индивидуальные штаммы грибов из насекомых различного географического происхождения (Забайкальский, Краснодарский края), не представилось возможным без применения молекулярно-генетического анализа штаммов, результаты применения которого обнаружили более высокий уровень дифференциации штаммов в сравнении с макроморфологией колоний, и в то же время несоответствие между морфологическими и генотипическими признаками. В частности, штаммы GUSB1, GUSB2, GUSB4, SX, KTX, KTX3 характеризовались молекулярным гаплотипом гена *tef*, идентичным таковому эталонного штамма ARSEF 1040, являющегося типовым штаммом *Beauveria bassiana* sensu Rehner et. al. 2011. Соответственно, на филогенетическом дереве они образовывали единый кластер с данным штаммом.

Штаммы GUSB3 и ZCm/w демонстрировали максимальное сходство со штаммом ARSEF 751 и тоже формировали отдельный кластер в рамках филогенетической линии, соответствующей *B. bassiana* sensu Rehner et. al. 2011. Наконец, штамм Bkuk оказался наиболее далеким от других штаммов из чешуекрылых, изученных в настоящей работе, и был идентифицирован как *B. pseudobassiana*. Несмотря на то, что дифференцировать все изученные штаммы по локусу *tef* не удается, полученные результаты показывают их принадлежность к разным подвидам *B. bassiana* и видам *Beauveria* и свидетельствуют о необходимости анализа более вариабельных локусов. Что же касается штамма ББК-1, то установлена его принадлежность к другой подгруппе штаммов *B. bassiana*.

#### *Модельные эксперименты по оценке роли гифомицетов в гибели диапаузирующих пронимф*

Для оценки влияния энтомопатогенных гифомицетов на смертность лугового мотылька во время диапаузы, были заложены опыты во второй декаде сентября 2012 г. в двух географических точках - в Краснодарском крае (х. Слободка Славянского р-на) и Бурятии (с. Унэгэтэй Селенгинского р-на). В экспериментах было использовано два генетически далеко отстоящих друг от друга штамма гриба *Beauveria bassiana* s.l.: GUSB1, выделенный из лугового мотылька, и эталонный штамм ББК-1.

Собранные после зимовки (в мае) коконы были помещены в термостат на реактивацию. При визуальном рассмотрении отдельные коконы из Краснодарского края были заражены гифомицетами.

Анализ материала из Бурятии показал, что в данной точке развития микоза не наблюдалось. В Краснодарском же крае уровень развития грибной инфекции на обработанных участках был относительно высоким и вне зависимости от штамма превышал 20%. При этом в контроле развития микоза не наблюдалось.

Существенные различия в проявлении грибной инфекции в Краснодарском крае (20-22%) и Бурятии, по всей видимости, обусловлены эффектом погодных условий, в первую очередь влиянием температуры: в Бурятии осенью она очень быстро пересекла отметку +10 °С и продолжала снижаться, тогда как в Краснодарском крае теплая погода (среднесуточная температура выше 15 °С) держалась еще более месяца.

Таким образом, ранний уход пронимф в диапаузу и, соответственно, их длительное нахождение в почве при благоприятных для развития почвенных энтомопатогенных грибов условиях (температуре в пределах 20-28 °С и влажности 80-90%) может способствовать росту смертности вредителя от микозов.

*Лабораторные эксперименты по оценке вирулентности штаммов энтомопатогенных гифомицетов на гусеницах лугового мотылька*

В целях оценки потенциала воздействия энтомопатогенных грибов на лугового мотылька провели испытание набора штаммов грибов на вирулентность по отношению к гусеницам вредителя.

Выделенные изоляты проявляли разную степень патогенности в отношении гусениц лугового мотылька. Уровень смертности вредителя при титре  $1 \times 10^7$  к 12 суткам составлял в зависимости от штамма 60-80%, при смертности в контроле на уровне 20%. Наибольшую эффективность показали штаммы GUSB2 и ББК-1, вызвав более 50% гибели гусениц на 6-е сутки. На 12-е сутки штамм ББК-1 вызывал 80% гибель.

## Глава 6 Районирование ареала лугового мотылька средствами ГИС

### 6.1 Ареал лугового мотылька на территории бывшего СССР и его районирование по числу генераций

Время, необходимое для прохождения полного цикла развития у лугового мотылька, в первую очередь зависит от суммы эффективных температур (СЭТ) (Кожанчиков, 1941; Luo Li-zhi, Li Guang-bo, 1993). Хотя порог развития не является постоянной величиной на протяжении онтогенеза насекомого (Кожанчиков, 1941), среднее его значение близко к 12 °С. При этом оценки СЭТ при пороге 12 °С, полученные при пересчете данных, опубликованных Кожанчиковым (1941) и китайскими авторами (Luo Li-zhi, Li Guang-bo, 1993), мало отличались друг от друга (табл. 4).

Таблица 4 Сумма эффективных температур при пороге 12 °С

Стадия онтогенеза	Значения СЭТ при пороге 12°С		
	данные И.В. Кожанчикова (1941)	данные Luo Li-zhi, Li Guang-bo (1993)	оценки, использованные нами при картографировании
куколка	145,8	152,8	150
имаго	80,0	82,9	80
яйцо	35,5	35,4	35
гусеница	166,6	201,2	200
пронимфа	30,5	60	65

Расчеты свидетельствуют, что для развития одного поколения в году необходимо 465 °С эффективных температур (в том числе 80 °С для реализации жизненных функций имаго, 35 °С для развития яйца, 200 °С – гусеницы, 150 °С – куколки), а для зимующего поколения – 530 °С (еще 65 °С для развития пронимфы).

Для расчета возможного числа поколений (Чп) лугового мотылька использовали формулу:

$$\text{Чп} = ((\text{СЭТ} > 12 \text{ °С}) - 530 \text{ °С}) / 465 \text{ °С} + 1$$

По результатам проведенного ГИС-анализа на территории бывшего СССР выделено несколько зон, в которых обеспечивается устойчивое развитие одного, двух, трех или четырех последовательных поколений лугового мотылька в сезоне (рис. 6).



Рисунок 6 Области устойчивого развития того или иного числа последовательных поколений лугового мотылька в сезоне на территории б. СССР, выделенные средствами ГИС-технологий (масштаб 1:20 000 000, проекция Равновеликая Альберса на СССР, 9, 1001, 7, 100, 0, 44, 68, 0, 0). Цифрами обозначены области развития (выделено разной штриховкой): одного (1), двух (2), трех (3), четырех и более (4) поколений

Безусловно, в годы вспышек массового размножения луговой мотылек будет обнаруживаться за пределами обозначенных нами границ устойчивого развития, нанося там существенный вред [см. карты в публикациях Кузнецовой и Чумакова (2008) и Саулич (2009)]. Однако эти поселения будут временными, поскольку климатические условия в этих районах не обеспечивают устойчивого развития насекомого. Для целей своевременного прогнозирования начала вспышек размножения мониторинг за состоянием вредителя следует проводить главным образом на территориях, где климатические условия способствуют устойчивому развитию вредителя в течение длительных периодов (Фролов, 2011).

В заключение отметим, что составленная нами карта потенциального числа генераций лугового мотылька в сезоне валидирована путем ее сопоставления с аналогичной картой числа генераций, составленной для Китая (Luo Li-zhi, Li Guang-bo, 1993); границы зон развития вредителя в одном и двух поколениях на территориях наших двух стран хорошо совпали, что свидетельствует в пользу корректности обеих карт.

### **6.2 Фитосанитарное районирование ареала лугового мотылька**

Следующим этапом явилось создание карты фитосанитарного районирования ареала лугового мотылька с использованием агроклиматических предикторов.

Для ее создания на территории б. СССР ранее представленная карта (рис. 6) была переделана для СЭТ > 12 °С, составляющей не 530, а 465 °С для завершающего поколения в сезоне (т.к. вред гусеницами может быть нанесен и в том случае, если для подготовки гусениц к перезимовке и их коконирования не хватило тепла). Следующим этапом работы стало выделение в каждой из зон областей, различающихся диапазонами значений гидротермического коэффициента (ГТК) по Г.Т. Селянинову, наблюдаемых с 50% вероятностью. Однако, прежде области с ГТК менее 0,5 были исключены из рассмотрения, как не обеспечивающие успешного развития насекомого. Области,

неблагоприятные для лугового мотылька по увлажненности (первая подзона), выделяли по значениям ГТК, попадающим в интервалы 0,5-0,7 и >2; промежуточно-оптимальные по уровню увлажненности области (вторая подзона) выделяли по ГТК в пределах 0,7-0,9 и 1,3-2,0; области, весьма благоприятные для насекомого по увлажненности (третья подзона), характеризовали ГТК в пределах 0,9-1,3 (рис. 7).

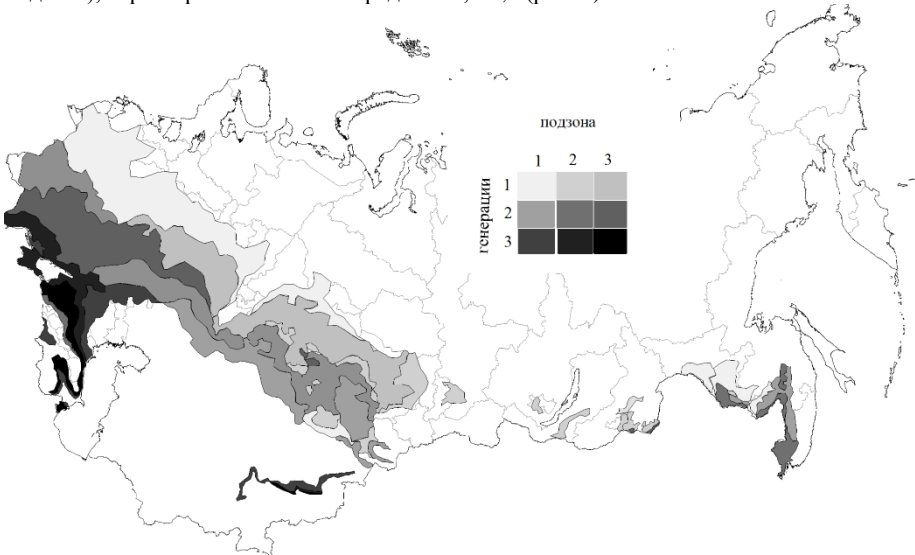


Рисунок 7 Агроклиматическая карта фитосанитарного районирования территории б. СССР, характеризующая три уровня благоприятности для развития лугового мотылька по увлажненности (подзоны 1-3 степень благоприятности повышается) для областей с последовательным развитием 1-3 поколений насекомого в сезоне, созданная средствами ГИС-технологий

Таким образом, по факту северная граница области фитосанитарного районирования проходила по линии 50% вероятности накопления СЭТ  $> 12^{\circ}\text{C} = 465^{\circ}\text{C}$  в сезоне, а южная – по ГТК за вегетационный период  $> 0,5$ .

Для предварительной верификации созданной агроклиматической карты ее сравнивали с опубликованными картами, характеризующими фактическое распространение насекомого в многолетнем аспекте. Одна из таких карт хозяйственного районирования Западной Сибири и Северного Казахстана была предложена И.Б.Кнором (1993) (рис. 8).

Очевидно, что созданная нами агроклиматическая карта фитосанитарного районирования неплохо согласуется со схемой И.Б.Кнора (1993) за исключением юго-восточной границы региона. Впрочем, это несовпадение может быть обусловлено тем, что карта И.Б. Кнора (1993) довольно сильно генерализована: по всей видимости, часть границ проведена просто по широтам.



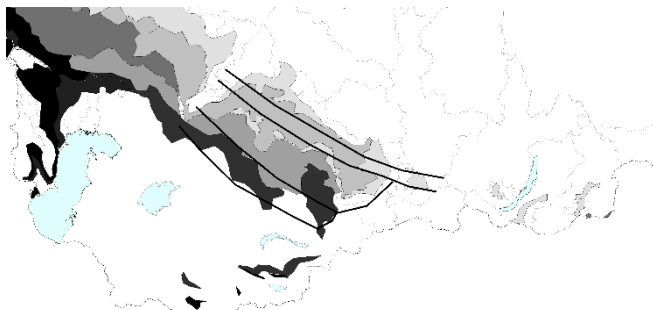


Рисунок 8 Валидация агроклиматической карты фитосанитарного районирования для Западной Сибири и Северного Казахстана: сравнение со схемой районирования этой территории, предложенной И.Б.Кнором (1993) по его многолетним наблюдениям за динамикой численности вредителя

### **6.3 Перспективы использования карт распространения лугового мотылька, построенных с использованием агроклиматических предикторов**

Большая часть ареала лугового мотылька приходится на территории России и сопредельных стран (Монголии, Китая, Казахстана и Украины). При этом начало, по крайней мере, трех последних вспышек массового размножения насекомого в России (1982-1988, 2000-2002 и 2008-2013) было зарегистрировано сперва в Восточной Сибири и/или на Дальнем Востоке (прежде всего в Амурской обл.), а в Европейскую часть б. СССР вредитель проникал намного позднее, лишь на третий-четвертый год. Многие отечественные специалисты не раз высказывали предположения, что начало вспышкам размножения дают бабочки, иммигрировавшие из-за рубежа, предположительно из очагов, расположенных в Китае или Монголии (Говоров, Живых, 2009; Машенко, 2009; Таюрская, Дашевский, 2009; Фролов и др., 2010). С другой стороны, китайские специалисты по защите растений высказывают мнение, что источником размножения вредителя на севере и северо-востоке Китая служат не только насекомые, мигрировавшие из постоянных очагов, расположенных в северном Китае, и новых очагов, выявленных на востоке Внутренней Монголии и равнине Суннэнь, но и из сопредельных территорий Монголии и России (Chen Xiao et. al., 2008; Luo et. al., 2009; Zhang et. al., 2009).

Для того, чтобы начать разбираться в сложном и дискуссионном вопросе о преобладающем направлении миграций лугового мотылька на границе Китая и России необходимо прежде всего в одной проекции представить карты фитосанитарного районирования сопредельных территорий обеих стран в ареале вредителя (рис. 9). Как оказалось, площади, пригодные для формирования очагов массового размножения лугового мотылька в Китае несоизмеримо превосходят таковые в России. А если учесть еще очевидно немалые площади, пригодные для размножения мотылька в Монголии, то доля российских территорий в зоне высокой численности вредителя региона представляется и вовсе незначительной. Далее, места зимовки насекомого (т.е. области, где в массе формируются диапаузирующие в коконах прониимфы лугового мотылька), как известно, приурочены к областям с развитием двух поколений (Luo et. al., 2009), а в Забайкальском крае и Бурятии климатические условия благоприятствуют развитию лишь одного полного поколения (Быкова, 1985) [хотя в условиях теплого лета здесь нередко отмечается вторая генерация (Шодотова, 2009), которая тем не менее может иметь залётное происхождение].

Поскольку вспышки размножения лугового мотылька в Восточной Сибири тесно увязаны по времени с масштабными размножениями вредителя в Китае (Chen Xiao et. al., 2008; Luo et. al., 2009; Говоров, Живых, 2009; Фролов и др., 2010; Кнор и др., 2011), то несмотря на важность мониторинга местной популяции лугового мотылька в Восточной Сибири (Быкова, 1985), представляется не менее актуальной задача наладить тесную координацию служб защиты растений России и Китая, т.к. вероятнее всего массовым размножениям вредителя в Восточной Сибири будут предшествовать вспышки размножения насекомого в северном Китае.

Задача эта тем более важна для российского сельского хозяйства, что иные пути для проникновения лугового мотылька из Китая и Монголии в Россию, кроме как через Забайкальский край и Бурятию, отсутствуют, поскольку перекрыты горными системами (Тянь-Шань, Памир, Алтай, Саяны) и пустынями (рис. 9).

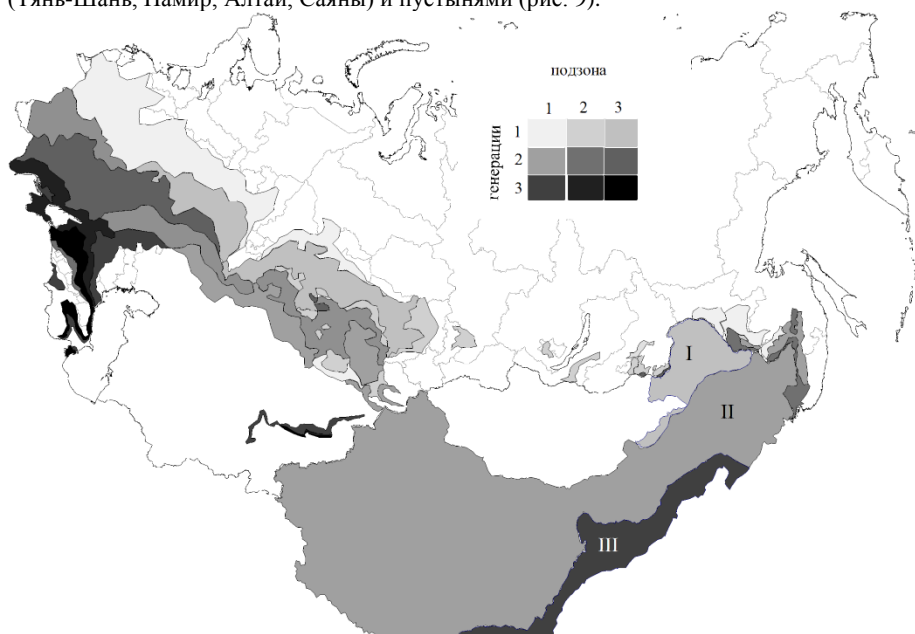


Рисунок 9 Фитосанитарное районирование ареала лугового мотылька на территории Российской Федерации, ближнего зарубежья (б. СССР) и Китая, выполненное методами ГИС-технологий. Условные обозначения: римскими цифрами обозначены зоны развития одного (I), двух (II) и трех (III) поколений (для территории Китая) (Luo Li-zhi, Li Guang-bo, 1993), см.рис.7 (для территории б. СССР)

### Выводы

1) По результатам молекулярно-биологического анализа имаго лугового мотылька, собранных в 9 географических пунктах европейской и азиатской частей ареала, идентифицированы 27 уникальных гаплотипов гена *cox1* мтДНК, из которых 6 встречались неоднократно. Доля уникальных гаплотипов в выборках варьировала от 4 (Хебей) до 24% (Воронеж) при среднем значении 12%. В целом уровень генетического полиморфизма у лугового мотылька оказывается весьма высоким и оценивается величиной  $0,696 \pm 0,033$ .

- 2) Генетическая структура популяций лугового мотылька в ареале, описываемая частотами гаплотипов сох1 мтДНК, характеризуется однородностью (средние значения  $F_{ST}$  и  $N_{ST} = 0,02$ ), что предполагает высокую интенсивность потоков генов в ареале.
- 3) Изучение ФПР лугового мотылька в выборках насекомых, собранных на западе (Краснодарский край, Ростовская область) и востоке (Бурятия, Китай) ареала, свидетельствует об отсутствии статистически значимой межпопуляционной изменчивости ее параметров с пороговым значением фотопериода, находящимся в пределах между 14 и 15 часами.
- 4) Лабораторными опытами выявлены весьма широкие пределы выносливости диапаузирующих прониmf лугового мотылька к температуре перезимовки, хотя наиболее дружная реактивация была отмечена при  $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Установлено, что температуры зимовки  $+20\dots+25\text{ }^{\circ}\text{C}$  лишь растягивают и замедляют реактивацию насекомых, но не вызывают существенно более высокой смертности насекомых. Таким образом, полученные материалы предполагают, что южная граница ареала лугового мотылька детерминруется не высокими зимними температурами, а иными факторами, например, низким уровнем увлажнения и/или высокими летними температурами.
- 5) Результаты наблюдений свидетельствует, что роль микроспоридий в динамике численности фитофага в период пика его массового размножения не существенна; негативное воздействие этих облигатных паразитов на численность вредителя резко возрастает в период затухания вспышки его размножения.
- 6) Модельными экспериментами установлено, что энтомопатогенные гифомицеты способны вызывать существенную гибель прониmf лугового мотылька уже на второй год после начала вспышки массового размножения при благоприятных для развития гриба условиях: температуре  $22\text{-}25\text{ }^{\circ}\text{C}$  и относительной влажности воздуха  $80\text{-}90\%$ ; лабораторные наблюдения подтвердили факт гетерогенности изолятов грибов по их вирулентности в отношении насекомого.
- 7) На базе агроклиматических предикторов (СЭТ, ГТК, фотопериод) территория бывшего СССР была районирована средствами ГИС на зоны, в пределах которых устойчиво развивается от одной до четырех генераций лугового мотылька в течение сезона.
- 8) В пределах выделенных зон с устойчивым развитием от одного до трех поколений лугового мотылька в сезоне посредством ГИС-анализа проведено фитосанитарное районирование территории России и сопредельных стран, основанное на грациях среднесезонных значений ГТК.

### Практические рекомендации

- 1) При проведении работ по прогнозу и мониторингу лугового мотылька необходимо учитывать особенности эколого-генетической структуры популяций вредителя, приспособленной к обитанию насекомого в диапазоне погодноклиматических факторов, свойственной зоне степей, а также специфику воздействия облигатных и факультативных патогенных микроорганизмов на выживаемость вредителя;
- 2) При организации мониторинга рекомендуется использовать составленные нами карты фитосанитарного районирования территории России и сопредельных стран в целях повышения точности краткосрочных прогнозов. При этом рекомендуется особое внимание уделять областям с устойчивым развитием двух и трех поколений лугового мотылька, как зонам наиболее вероятного нахождения очагов размножения вредителя.

### Список опубликованных работ

*Статьи, опубликованные в ведущих рецензируемых журналах*

1. **Аханаев, Ю.Б.** Фотопериодическая реакция популяций лугового мотылька *Loxostege sticticalis* L. (Lepidoptera, Pyraloidea: Crambidae) из восточных и западных частей ареала / **Ю.Б.Аханаев**, М.Н.Берим, Дзян Синьфу, Д.А.Кучеров, Луо Личжи, Ю.М.Мальш, С.Я.Резник, А.Х.Саулич, В.А.Соболев, Ю.С.Токарев, А.Н.Фролов, Чжан Лей // Энтомол. обзор. - 2013. - Т. 92. - Вып. 2. - С. 234-240.
2. Афонин, А.Н. Ареал лугового мотылька *Loxostege sticticalis* L. (Lepidoptera, Pyraloidea: Crambidae) на территории бывшего СССР и его районирование по числу генераций в сезоне / А.Н.Афонин, **Ю.Б.Аханаев**, А.Н.Фролов // Энтомол. обзор. - 2013. - Т. 92 - Вып. 4. - С. 693-716.
3. **Аханаев, Ю.Б.** О термотолерантности диапаузирующих пронимф лугового мотылька *Loxostege sticticalis* L. (Lepidoptera, Pyraloidea: Crambidae) / **Ю.Б.Аханаев**, М.Н.Берим, С.Я.Резник, А.Х.Саулич, А.Н.Фролов // Энтомол. обзор. - 2014. - Т. 93. - Вып. 2. - С. 249-255.
4. Мальш, Ю.М. Динамика численности лугового мотылька *Pyrausta (=Loxostege) sticticalis* L. (Pyraloidea, Crambidae) на юге европейской части России в 2003-2012 гг. / Ю.М.Мальш, Ю.С.Токарев, А.А.Зверев, М.И.Саулич, Ю.А.Захарова, **Ю.Б.Аханаев**, А.Н.Фролов // Вестник защиты растений. - 2013. - № 3. - С. 18-25.

*Статьи, опубликованные в прочих научных журналах, сборниках и материалах научных конференций*

5. Фролов, А.Н. Цикличность динамики численности эруптивного типа: луговой мотылек как пример / А.Н.Фролов, Ю.М.Мальш, Ю.С.Токарев, А.А.Зверев, **Ю.Б.Аханаев** // В кн.: Фитосанитарная оптимизация агроэкосистем. III Всероссийский съезд по защите растений (Санкт-Петербург, 16-20 декабря 2013 г.). - СПб: 2013. - ВИЗР. - Т. 1. - С. 93-97.
6. Конончук, А.Г. Морфо-культуральные и молекулярно-генетические признаки в диагностике изолятов *Beauveria bassiana* s.l. из чешуекрылых насекомых / А.Г. Конончук, Г.Р.Леднёв, А.Н.Фролов, И.А.Казарцев, **Ю.Б.Аханаев**, Ю.М.Мальш // В кн.: Фитосанитарная оптимизация агроэкосистем. III Всероссийский съезд по защите растений (Санкт-Петербург, 16-20 декабря 2013 г.). - СПб: 2013. - ВИЗР. - Т. 2. - С. 352-354.
7. Мальш, Ю.М. Полиморфизм нуклеотидной последовательности митохондриального гена *cox1* в природных популяциях лугового мотылька / Ю.М. Мальш, **Ю.Б.Аханаев**, Ю.С.Токарев, А. Н.Игнатьева, А.Н.Фролов // Научное обоснование развития АПК в условиях реформирования. - Сб. научн. тр. СПбГАУ. - 2013. - Ч. 1. - С. 78-80.
8. **Аханаев, Ю.Б.** О фотопериодической реакции лугового мотылька *Loxostege sticticalis* L. (Pyraloidea, Crambidae) / **Ю.Б.Аханаев**, А.Х.Саулич, С.Я.Резник, Ю.М.Мальш, Ю.С.Токарев, М.Н.Берим, А.Н.Фролов // XIV съезд Русского энтомологического общества. Санкт-Петербург, 27 августа - 1 сентября 2012 г. - Материалы съезда. - Санкт-Петербург, 2012. - С. 35.