

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ БЕЛОСОЛОМЕННОЙ ГНИЛИ ПШЕНИЦЫ (*GIBELLINA CEREALIS*) МЕТОДОМ ПЦР

Н.С. Пильщикова, Ф.Б. Ганнибал

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург

Вредоносное заболевание пшеницы – белосоломенная гниль (гибеллиоз) в последние годы получило более широкое распространение в Предкавказье. Диагностика вызываемого *Gibellina cerealis* заболевания затруднена, так как на начальных этапах оно имеет симптомы, сходные с поражением некоторыми другими патогенами. Альтернативой традиционным методам диагностики являются молекулярно-генетические методы. Цель нашего исследования – разработать основанный на полимеразной цепной реакции (ПЦР) метод идентификации возбудителя белосоломенной гнили зерновых культур в чистой культуре и в растительной ткани. Для этого были секвенированы ITS области рибосомального оперона и ген β -тубулина *G. cerealis*. Анализ нуклеотидных последовательностей подтвердил родство рода *Gibellina* с родом *Gaeumannomyces* и другими представителями семейства Magnaporthaceae. Были сконструированы две пары праймеров Gib-F (CCG GAG GTA CCA AAC TCT AAG), Gib-R (GCT GGA ACC CGA CTG GAG) и GibC-F (GCG CCC TCT TCT CCA TCT CA), GibC-R (TAG ACG CTC ATG CGC TCC AG) для видоспецифичной амплификации ITS областей и гена β -тубулина соответственно. Ожидаемый размер ампликонов для первой пары праймеров составил 368 п.н., для второй – 325 п.н. Проверка специфичности и чувствительности разработанных методик для идентификации гриба *G. cerealis* показала целесообразность использования ПЦР в формате «nested» с праймерами ITS1/ITS4 в первой реакции и Gib-F/Gib-R – во второй, проводимой в формате touchdown-ПЦР. Аналогичная методика анализа на основе амплификации гена β -тубулина также дала удовлетворительные результаты, оказавшись несколько менее чувствительной.

Ключевые слова: гибеллиоз, видоспецифичные праймеры, секвенирование ДНК, ITS области рДНК, β -тубулин, *Gaeumannomyces*.

Одним из вредоносных заболеваний пшеницы является белая прикорневая гниль (гибеллиоз, белосоломенная гниль, белостебельность). Возбудитель болезни – сумчатый гриб *Gibellina cerealis* (Pass.) Pass. В России это заболевание впервые было обнаружено в Ставропольском крае в 1985 году на озимой пшенице (Шутко и др., 2012), но его массового распространения в те годы не наблюдалось (Савченко, Вдовенко, 2012).

В период с 2001 по 2005 гг. благодаря мониторингу в северной зоне Краснодарского края белосоломенная гниль отмечалась в производственных посевах пшеницы почти ежегодно. Только в 2002 г., отличавшемся необычно засушливыми условиями в весенний период, данное заболевание не было зафиксировано, как впрочем, и многие другие болезни растений (Зазимко и др., 2006). В 2009–2011 гг. белосоломенная гниль была обнаружена практически на всей территории Ставропольского края (Савченко, Вдовенко, 2012). За эти три года площадь полей озимой пшеницы, поражённой заболеванием, по отношению к обследованной площади увеличилась с 9 до 62%. В последние годы заболевание стало нередким в Краснодарском, Ставропольском краях, Ростовской и Волгоградской областях (Жалиева, 2012). К увеличению вредоносности гибеллиоза приводит повсеместное внедрение вспашки без оборота пласта, благодаря чему растительные остатки с присутствующими на них микроорганизмами остаются на поверхности почвы (Гасич и др., 2015). Помимо России поражение пшеницы *G. cerealis* отмечали в ряде стран Европы, в Азии и Северной Америке (Booth, 1977).

Поражение озимой пшеницы гибеллиозом вызывает большие потери урожая зерна. В случае сильного поражения растения отмирают, не давая урожая (Зазимко и др., 2006). При слабом поражении стебли либо не выколашиваются, либо образовавшиеся колосья плохо озернены – снижение массы зерна с одного колоса может достигать

85% (Таракановский, 2004). Кроме того, поражение *G. cerealis* приводит к ломкости стеблей, они беспорядочно полегают, что затрудняет уборку урожая (Кузнецов, 2010).

Патоген способен поражать несколько видов злаков. Чаще его выделают из пшеницы, редко – из ячменя и ржи (Никитина, Полозова, 1990), искусственно удавалось заразить также рис и тритикале (Glynne, Fitt, 1985).

Хорошо заметным поражением *G. cerealis* становится в фазе кущения. На влагилицах листьев и листовых пластинках с верхней стороны образуются овальные пятна 5–7 мм в длину, песочного цвета с бледно-коричневой каймой, в центре таких пятен хорошо заметен чёрный налёт. В дальнейшем поражённые листья желтеют и отмирают. Болезнь затрагивает, главным образом, влагилица листьев, но может переходить и непосредственно на стебель, на отдельных растениях обнаруживается поражение подземной части (Кузнецов, 2010; Шутко и др., 2012).

По мере роста растений, симптомы болезни распространяются вверх по стеблю. В это время на них формируется обильный налёт мицелия: свежие пятна белого цвета (отсюда название болезни), старые – серого. На внутренних тканях стеблей в мицелиальной строме формируются многочисленные чёрные плодовые тела с вытянутыми устьицами, которые насквозь пронизывают стенку стебля (Никитина, Полозова, 1991). Устьица плодовых тел на поверхности пятен, а чаще по всей поверхности стебля, выступают многочисленными чёрными бугорками на 1–2 мм наружу, придавая стеблям шероховатость. Поражённый стебель становится ломким, легко крошится, растения не выколашиваются (Никитина, Полозова, 1991; Зазимко и др., 2006; Кузнецов, 2010). В отдельных случаях *G. cerealis* был обнаружен на колосе (Кузнецов, 2010) и даже в семенах пшеницы (Савченко, Вдовенко, 2012).

Диагностика вызываемого *G. cerealis* заболевания затруднена, так как оно имеет симптомы, сходные с по-

ражением другими патогенами. На начальных этапах симптомы белосоломенной гнили похожи на поражение церкоспореллёзом (возбудитель – *Pseudocercospora herpotrichoides*), ризоктониозом (*Rhizoctonia solani*) или офиоболёзом (*Gaeumannomyces graminis*). В фазе выхода озимой пшеницы в трубку гибеллинозная гниль похожа на поражение влагаллиц нижних листьев мучнистой росой (*Blumeria graminis*) (Таракановский, 2004; Зазимко и др., 2006; Жалиева, 2007).

На данный момент для идентификации *G. cerealis* используются исключительно классические методы: визуальный анализ симптомов и микроскопирование спор, соскобленных со стеблей. Затруднение вызывает тот факт, что для развития спороношения, как на естественном субстрате, так и в условиях чистой культуры, требуется относительно длительное время.

Использование традиционных микологических методов идентификации фитопатогенных грибов нередко ока-

зывается неэффективным для надёжной и оперативной фитосанитарной диагностики. Альтернативой выступают современные молекулярно-генетические методы. Высокая чувствительность и относительная простота исполнения сделали методы, основанные на полимеразной цепной реакции (ПЦР), популярными для выявления и определения ряда фитопатогенов (Гагкаева и др., 2009).

Нами была поставлена цель – разработать основанный на ПЦР метод для надёжной идентификации возбудителя белосоломенной гнили зерновых культур в чистой культуре и для его выявления в растительной ткани на ранних стадиях заболевания. Для достижения цели были сконструированы видоспецифичные праймеры, проверена специфичность и чувствительность ПЦР-анализа, подразумевающего использование этих праймеров, а также оптимизирован протокол реакции.

Материалы и методы

В работе использованы два изолята *G. cerealis*, выделенные из стеблей пшеницы из Краснодарского (MF-C22701) и Ставропольского (MF-C22704) краёв, выделенные в 2011 г. Е.Л. Гасич и хранящиеся в лаборатории микологии и фитопатологии Всероссийского НИИ защиты растений. ДНК из чистых культур *G. cerealis* и заражённых листьев пшеницы экстрагировали по стандартному «ЦТАБ-хлороформ» протоколу (Doyle, Doyle, 1987). Секвенирующую ПЦР проводили с использованием набора BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (ABI, США). Определение нуклеотидных последовательностей осуществляли на генетическом анализаторе ABI PRIZM 3500 (ABI-Hitachi, Япония). Редактировали последовательности в программе VectorNTI Suite 8.0. Полученные нуклеотидные последовательности помещены в базу данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

Для конструирования праймеров были выбраны два участка генома, количество прочитанных нуклеотидных последовательностей которых для грибов, филогенетически близких *G. cerealis*, в базе данных GenBank было наибольшим: внутренние транскрибируемые спейсеры рибосомального оперона (ITS области рДНК) и ген β -тубулина. Для анализа нуклеотидных последовательностей данных участков генома гриба *G. cerealis* было проведено их секвенирование. Для поиска видоспецифичных маркерных нуклеотидных последовательностей было проведено сравнение последовательностей ДНК *G. cerealis* (получены нами) с последовательностями других видов семейства Magnaporthaceae, таких как *Gaeumannomyces* spp., *Harpophora* spp., *Magnaporthe/Pyricularia* spp. и *Burgennerula spartinea* (получены из базы данных GenBank). Конструирование праймеров проводили с использованием программы Primer3Plus (Untergasser et al., 2007).

ПЦР проводили в 25 мкл реакционной смеси: 1× ПЦР-буфер для Taq полимеразы с 2.5 мМ MgCl₂ (Хеликон, Россия), трифосфаты нуклеотидов – 0.2 мМ каждого типа, праймеры – 0.5 мкМ

каждого, Taq полимеразы – 1 ед. (Хеликон, Россия). Температуру отжига сконструированных праймеров определяли экспериментально путём проведения ПЦР с градиентом температур. Программа амплификации в этом случае была следующей: денатурация – 95°C в течение 4 мин.; затем 30 циклов: денатурация – 92°C, 40 с.; отжиг – 50–65°C, 30 с.; элонгация – 72°C, 30 с.; финальный синтез – 72°C, 3 мин. Для дальнейшей оптимизации амплификации осуществляли ПЦР в форматах «touchdown» и «nested». Протокол проведения touchdown-ПЦР отличался от описанного выше тем, что в первых 5 циклах температура отжига составляла 69°C, а в последующих 30 – 65°C. При осуществлении nested-ПЦР видоспецифичную амплификацию участка гена β -тубулина предваряли амплификацией с праймерами T1/T2 (Saleh, Leslie, 2004), соблюдая следующий протокол: 95°C – 4 мин.; 30 циклов: 92°C – 40 с., 63°C – 30 с., 72°C – 40 с.; 72°C – 3 мин. Видоспецифичную амплификацию ITS областей предваряли ПЦР с праймерами ITS1/ITS4 (White et al., 1990) по аналогичному протоколу, отличающемуся только температурой отжига праймеров (55°C). ПЦР проводили в амплификаторе C-1000 (Bio-Rad, США). Горизонтальный электрофорез продуктов амплификации проводили в 1.5% агарозном геле с бромистым этидием (1 мкг/мл).

Специфичность ПЦР оценили, взяв ДНК, выделенную из чистых культур *G. cerealis* и других грибов, встречающихся на пшенице: *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, *Alternaria tenuissima*, *A. infectoria*, *A. alternata* и *Bipolaris sorokiniana*, а также из непоражённых гибеллинозом листьев пшеницы.

Чувствительность ПЦР с разработанными праймерами оценивали путём анализа листьев пшеницы, искусственно заражённых *G. cerealis*. Для анализа взяты были фрагменты листьев длиной около 1 см, в разной степени поражённые патогеном: сильной, слабой, с хлорозом и без поражения (всё в двух повторностях).

Результаты и обсуждение

Секвенированы нуклеотидные последовательности ITS областей и гена β -тубулина ДНК *G. cerealis* (учётные номера Genbank – KT377185, KT377186, KT377187). Полученные последовательности были сравнены с базой данных GenBank с помощью алгоритма BLAST. Результаты подтвердили родство *Gibellina* с другими родами семейства Magnaporthaceae. Наибольшее сходство последовательностей *G. cerealis* было с последовательностями *Gaeumannomyces cylindrosporus* и *G. caricis*. На основе сравнения полученных в результате секвенирования ну-

клеотидных последовательностей ДНК *G. cerealis* с последовательностями других представителей семейства Magnaporthaceae были сконструированы две пары праймеров, приведенные в таблице.

Обе пары праймеров позволяли получать хорошо детектируемое количество продуктов ПЦР при использовании всего диапазона температур отжига праймеров (50–65°C). Размер полученных в результате ПЦР продуктов соответствовал ожидаемому, неспецифические продукты отсутствовали. В дальнейшем ПЦР ставили с T_a=65°C.

Таблица – Праймеры, предназначенные для специфической амплификации ДНК *Gibellina cerealis*

Участок генома	Праймер	Нуклеотидная последовательность, 5'→3'	Размер ампликона, п.н.
ITS области	Gib-F, прямой	CCG GAG GTA CCA AAC TCT AAG	368
	Gib-R, обратный	GCT GGA ACC CGA CTG GAG	
ген β-тубулина	GibC-F, прямой	GCG CCC TCT TCT CCA TCT CA	325
	GibC-R, обратный	TAG ACG CTC ATG CGC TCC AG	

При амплификации ДНК нецелевых видов грибов (*Fusarium* spp., *Alternaria* spp. и *Bipolaris sorokiniana*) ампликоны не образовывались вне зависимости от используемой пары праймеров. Однако было выявлено, что в ходе ПЦР с ДНК пшеницы пара праймеров Gib-F/Gib-R может приводить к образованию неспецифического ампликона размером около 550 п.н., который на электрофореграмме легко отличим от целевого продукта. Использование touchdown ПЦР позволило избежать появления неспецифических продуктов ПЦР.

В результате проведения ПЦР с ДНК из заражённых листьев пшеницы специфичные продукты амплификации были получены только для листьев с сильным поражением белосоломенной болезнью (рис. 1), и в одном случае – для слабого поражения (с праймерами Gib-F/Gib-R). То есть чувствительность разработанного метода анализа в указанных условиях амплификации оказалась невысокой. Несколько бóльшая чувствительность ПЦР с парой праймеров Gib-F/Gib-R, по-видимому, является следствием того, что кластер рДНК является высококопийным участком ДНК (White et al., 1990).

Результаты nested-ПЦР с праймерами ITS1/ITS4 и Gib-F/Gib-R приведены на рисунке 2. Как видно, чувствительность nested-ПЦР выше по сравнению с обычной ПЦР: положительный результат получен не только для образцов с сильным и слабым поражением, но и для одного образца с хлорозом (рис. 2, ряды 12–13). Таким образом,

применение ПЦР в формате «nested», вероятно, позволит обнаруживать поражение растений *G. cerealis* на ранней стадии – ещё до появления специфических симптомов заболевания. Результаты nested-ПЦР с праймерами T1/T2 и GibC-F/GibC-R оказались сходными, но продемонстрировали меньшую чувствительность метода.

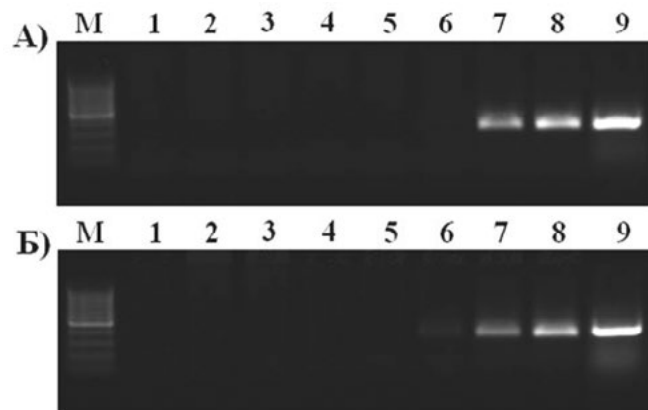


Рисунок 1. Результаты ПЦР с ДНК из листьев пшеницы с различной степенью поражения *Gibellina cerealis*. А – ПЦР с праймерами GibC-F/GibC-R; Б – ПЦР с праймерами Gib-F/Gib-R. Условные обозначения рядов: М – маркер молекулярной массы; 1–8 – ДНК из листьев пшеницы, в разной степени поражённых *G. cerealis*: 1, 2 – без поражения; 3, 4 – хлороз; 5, 6 – слабое поражение; 7, 8 – сильное поражение; 9 – положительный контроль (ДНК *G. cerealis* из чистой культуры, штамм MF-C22704)

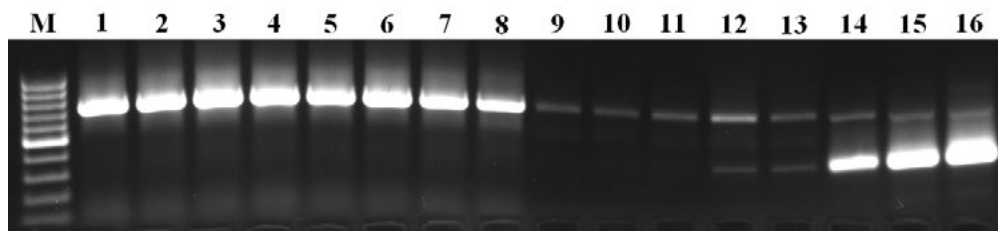


Рисунок 2. Результаты nested ПЦР (внешние праймеры ITS1/ITS4; внутренние – Gib-F/Gib-R) с ДНК из листьев пшеницы с различной степенью поражения *Gibellina cerealis*. Условные обозначения рядов: М – маркер молекулярной массы; 1–16 – ДНК из листьев пшеницы, в разной степени поражённых *G. cerealis*: 1, 2, 9, 10 – без поражения; 3, 4, 11, 12 – хлороз; 5, 6, 13, 14 – слабое поражение; 7, 8, 15, 16 – сильное поражение; 1–8 – результаты первого цикла амплификации; 9–16 – результаты второго цикла амплификации

Кроме повышения специфичности и чувствительности, применение nested-ПЦР позволяет одновременно осуществить и контроль качества экстракции ДНК, который необходим в любом случае для подтверждения пригодности препарата ДНК для ПЦР. При наличии ДНК искомого вида гриба в пробе в результате первого цикла амплификации должен наблюдаться продукт размером около 500–700 п.н. (для праймеров ITS1/ITS4, которые амплифицируют любую грибную и растительную ДНК) или около 900 п.н. (для праймеров T1/T2, которые амплифицируют ДНК грибов и бактерий). В результате второго цикла образуется специфический фрагмент, свидетельствующий о наличии в пробе ДНК вида *G. cerealis*.

Таким образом, считаем целесообразным использование nested-ПЦР с комбинацией праймеров ITS1/ITS4 в первой реакции и Gib-F/Gib-R во второй, проводимой в формате touchdown-ПЦР для идентификации гриба *G. cerealis*. Идентификация может быть проведена в случае выделения ДНК из чистой культуры гриба и из растительной ткани (желательно наличие хорошо развитых некротических пятен). Если анализу подвергнуть растительный образец, в котором присутствует только растительная ДНК, а грибная ДНК отсутствует, в первом раунде nested-ПЦР образуется соответствующий продукт амплификации, подтверждающий успешность экстракции ДНК

и выполняющий на этом этапе функцию положительного контроля.

Удовлетворительные результаты даёт аналогичный, несколько менее чувствительный, но более специфичный анализ на основе амплификации гена β -тубулина. В

случае проведения его в формате «nested» по результатам первой реакции можно судить о заражённости образца какими-либо микроорганизмами, а по второй – о наличии в образце ДНК *G. cerealis*.

Plant Protection News, 2015, 3(85), p. 46–50

IDENTIFICATION OF WHEAT FALSE EYESPOT AGENT *GIBELLINA CEREALIS* BY USE OF PCR

Pilshchikova N.S., Gannibal F.B.

All-Russian Institute of Plant Protection, Saint Petersburg, Russia

The serious wheat disease, False eyespot caused by the fungus *Gibellina cerealis*, became more widespread during the last years in the Ciscaucasia (the southern part of European Russia). Diagnostics of this disease is difficult, since it induces symptoms initially similar with those induced by some other pathogens. The goal of our study was to develop a PCR-based method for *G. cerealis* identification in pure culture and plant tissue. ITS regions of ribosomal DNA and the gene for β -tubulin were sequenced. Analysis of obtained sequences confirmed the relationship of the genus *Gibellina* with the genus *Gaeumannomyces* and other members of Magnaporthaceae family. Two primer pairs, Gib-F (CCG GAG GTA CCA AAC TCT AAG), Gib-R (GCT GGA ACC CGA CTG GAG) and GibC-F (GCG CCC TCT TCT CCA TCT CA), GibC-R (TAG ACG CTC ATG CGC TCC AG), were designed for species-specific amplification of *G. cerealis* ITS regions and the β -tubulin gene, respectively. An expected amplicon size was 368 and 325 bp. Evaluation of specificity and sensitivity of the developed methods for *G. cerealis* identification showed appropriateness of usage of nested-PCR with ITS1/ITS4 primers on the first stage and Gib-F/Gib-R on the second stage realized as touchdown-PCR. Similar protocol based on β -tubulin gene amplification also showed satisfactory results; however, it was somewhat less sensitive.

Keywords: species-specific primer; DNA sequencing; ITS regions; β -tubulin; *Gaeumannomyces*.

Библиографический список (References)

- Гагкаева Т.Ю., Ганнибал Ф.Б., Гаврилова О.П. Метод ПЦР-диагностики фитопатогенных грибов рода *Fusarium* и *Alternaria* // Высокопроизводительные и высокоточные методы фитосанитарного мониторинга. СПб.: ГНУ ВИЗР, 2009. с 4–14.
- Гасич Е.Л., Хлопунова Л.Б., Гагкаева Т.Ю., Дмитриев А.П. Действие фунгицидов на развитие гибеллиноза пшеницы при искусственном заражении в лабораторных условиях // Защита и карантин растений. 2015. 1. С. 29–31.
- Жалиева Л.Д. Гибеллиноз озимой пшеницы // Защита и карантин растений. 2007. 6. С. 46.
- Жалиева Л.Д. Гибеллиноз озимой пшеницы // Современная микология в России. Т. 3. Материалы 3-го съезда микологов России. М.: Национальная академия микологии. 2012. С. 329.
- Зазимко М.И., Монастырская Э.И., Таракановский А.Н., Саенко А.А. Гибеллинозная гниль стеблей озимой пшеницы в Краснодарском крае // Защита и карантин растений. 2006. 7. С. 17–18.
- Кузнецов Д.И. Белосоломенная гниль пшеницы // Защита и карантин растений. 2010. 11. С. 42–44.
- Никитина Е.В., Полозова Н.Л. Диагностика грибных пятнистостей зерновых культур в интенсивном земледелии (методические указания). Л.: 1990. 74 с.
- Савченко Т.И., Вдовенко Т.В. Гибеллина выявлена в семенах озимых зерновых культур // Защита и карантин растений 2012. 5. С. 16.
- Таракановский А.Н. Биологические особенности и вредоносность возбудителей корневых гнилей озимой пшеницы в Краснодарском крае, вызываемых грибами *Ophiobolus graminis* Sacc. (Mc.Alp.) Sacc. and D. Sacc. и *Gibellina cerealis* Pass. // Дис. ... канд. биол. наук. Краснодар, 2004, 151 с.
- Шутко А.П., Зимоглядова Т.В., Тутуржанс Л.В., Мищерин А.М. Вредоносность гибеллинозной гнили стеблей озимой пшеницы // Защита и карантин растений. 2012. 5. С. 38–40.
- Booth C. 1977. *Gibellina cerealis* // CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria. 1977. 534.
- Doyle J.J., Doyle J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // Phytochemistry Bulletin. 1987. 19. P. 11–15.
- Glynne M.D., Fitt B.D.L., Hornby D. *Gibellina cerealis*, an unusual pathogen of wheat // Transactions of the British Mycological Society. 1985. 8. P. 653–659.
- Saleh A.A., Leslie J.F. *Cephalosporium maydis* is a distinct species in the *Gaeumannomyces-Harpophora* species complex. Mycologia. 96 (6). 2004. P. 1294–1305.
- White T.J., Bruns T., Lee S., Taylor J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics / PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, eds. M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T.J. White. Academic Press, Inc., New York. 1990. P. 315–322.
- Untergasser A., Nijveen H., Rao X., Bisseling T., Geurts R., Leunissen J.A.M. Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3 // Nucleic Acids Research. 2007. 35 (suppl. 2), P. W71–W74.

Translation of Russian References

- Gagkaeva T.Yu., Gannibal Ph.B., Gavriloova O.P. Method of PCR-diagnostics of phytopathogenic fungi of the genera *Fusarium* and *Alternaria*. In: Vysokoproduktivnye i vysokotochnye metody fitosanitarnogo monitoringa. St. Petersburg: GNU VIZR, 2009. s 4–14. (In Russian).
- Gasich E.L., Khlounova L.B., Gagkaeva T.Yu., Dmitriev A.P. Impact of fungicides on development of false eyespot of wheat during artificial inoculation under laboratory conditions. Zashchita i karantin rastenii. 2015. 1. P. 29–31. (In Russian).
- Kuznetsov D.I. False eyespot of wheat. Zashchita i karantin rastenii. 2010. 11. p. 42–44. (In Russian).
- Nikitina Ye.V., Polozova N.L. Diagnostics of fungal spots of cereals in intensive agriculture (methodical instructions). Leningrad, 1990. 74 p. (In Russian).
- Savchenko T.I., Vdovenko T.V. *Gibellina* has been revealed in seeds of winter cereals. Zashchita i karantin rastenii 2012. 5. P. 16. (In Russian).
- Shutko A.P., Zimoglyadova T.V., Tuturzhans L.V., Mishcherin A.M. Vredonosnost' gibellinoznoi gnili steblei ozimoi pshenitsy. Zashchita i karantin rastenii. 2012. 5. P. 38–40. (In Russian).
- Tarakanovskii A.N. Biological characters and harmfulness of the root rot causal agents of winter wheat in Krasnodar Territory induced by fungi *Ophiobolus graminis* Sacc. (Mc.Alp.) Sacc. et D. Sacc. and *Gibellina cerealis* Pass. PhD Thesis. Krasnodar, 2004, 151 p. (In Russian).
- Zazimko M.I., Monastyrnaya E.I., Tarakanovskii A.N., Saenko A.A. *Gibellina* stem rot of winter wheat in the Krasnodar Territory. Zashchita i karantin rastenii. 2006. 7. P. 17–18. (In Russian).

Zhalieva L.D. False eyespot of wheat. Zashchita i karantin rastenii. 2007. 6. P. 46. (In Russian).

Zhalieva L.D. False eyespot of winter wheat. In: Sovremennaya mikologiya v Rossii. T. 3. Materialy 3-go s'ezda mikologov Rossii. Moscow: Natsional'naya akademiya mikologii. 2012. P. 329. (In Russian).

Сведения об авторах

ООО «ПАРСЕК ЛАБ», Биржевая линия 16, 199053, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Пильщикова Надежда Сергеевна. Младший научный сотрудник. Всероссийский НИИ защиты растений, шоссе Подбельского, 3, 196608 Санкт-Петербург - Пушкин, Российская Федерация

**Ганнибал Филипп Борисович*. Зав. лабораторией Микологии и фитопатологии, канд. биол. наук, e-mail: fgannibal@vizr.spb.ru.

* Ответственный за переписку

Information about the authors

PARSEQ LAB Co. Ltd., Birzhevaya liniya 16, 199053, St. Petersburg, Russian Federation

Pilshchikova Nadezhda Sergeevna, Junior Researcher. All-Russian Institute of Plant Protection, Podbelskogo shosse, 3, 196608, St Petersburg - Pushkin, Russian Federation

**Gannibal Filipp Borisovich*, Head of Laboratory, Ph.D. in Biology, e-mail: fgannibal@vizr.spb.ru

* Responsible for correspondence