

УДК 63, 576.88

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ НЕМАТОДОВИРУСНОГО ФИТОПАТОКОМПЛЕКСА В УСЛОВИЯХ ПАРОВОГО ПОЛЯ И ПИТОМНИКА ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР ON THE FORMATION OF COMPLEXES OF PLANT-PARASITIC NEMATODES AND PLANT-PATHOGENIC VIRUSES UNDER CONDITIONS OF FALLOW AND FIELDS PLANTED WITH HORTICULTURAL CROPS

К.В. Метлицкая, Всероссийский селекционно-технологический институт садоводства и питомниководства, ул. Загорьевская, 4, Москва, 115598, Россия, тел. +7 (495) 329-32-33, e-mail: virlabor@mail.ru
Н.Д. Романенко, С.Б. Таболин, Центр паразитологии Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова, Ленинский проспект, 33, Москва, 119071, Россия, тел. +7 (495) 952-31-45, e-mail: cenologypathlab@mail.ru
К.В. Metlitskaya, Institute of Horticulture and Nursery Management, Zagoryevskaya sr., 4, Moscow, 115598, Russia, tel. +7 (495) 329-32-33, e-mail: virlabor@mail.ru
N.D. Romanenko, S.B. Tabolin, Center for Parasitology, A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Leninskiy prospect, 33, Moscow, 119071, Russia, tel. +7 (495) 952-31-45, e-mail: cenologypathlab@mail.ru

Изучены особенности формирования нематоде-вирусного фитопатоконплекса в условиях занятого и незанятого пара на примере закладки маточных насаждений плодовых культур в ООО «Сады Чечни». Установлено, что ряд опасных групп вирусов (непо- и садва-) и нематод (цистообразующие — седентарные, корневые эндо- и эктопаразитические — ранящие и перфораторы) сохраняют свою активность на протяжении года на парующих участках и имеют как очаговое, так и диффузное пространственное распространение. Переносчики непо- и садва- групп вирусов — нематоды семейства Longidoridae поддерживали активность вирусов на протяжении парования в течение года. На занятых участках парового поля саженцами семечковых и косточковых плодовых культур численность паразитических нематод превышала известные пороги вредоносности уже в первый год после посадки.

Ключевые слова: нематоды, вирусы, фауна, популяции, трофические группы, почвенные образцы, саженцы, биотесты

The formation of complexes of plant-parasitic nematodes and plant-pathogenic viruses under conditions of cultivated, non- cultivated fallow, and fields planted with horticultural crops was studied on the territory of Sady Chechni, LLC in the Grozny region of the Chechen Republic. It was established that some pathogenic viruses (NEPO and SADWA groups) and parasitic nematodes (cyst, sedentary, lesion and other groups) can survive for a year under conditions of cultivated fallow. In this case, virus-vector nematodes of the family Longidoridae retained living NEPO and SADWA viruses. In the fields planted a year ago with cherry and apple seedlings, the thresholds of damage had been exceeded. The type of the soil infestation varied from focal to diffuse.

Key words: virus, nematodes, fauna, populations, trophic groups, soil samples, seedlings, biological tests.

В южных регионах РФ наибольший вред наносят ранящие нематоды (*Pratylenchus* spp.), нематоды-вирусоносители (*Longidoridae* и *Trichodoridae* spp.) и цистообразующие нематоды (*Globodera* и *Heterodera* spp.). В настоящее время изучение нематодофауны в этих регионах, и в особенности в Чеченской Республике, практически не ведется. В связи с намеченной программой по восстановлению сельского хозяйства ЧР, исследование фауны нематод для установления исходной инвазионной нагрузки в создаваемых агроценозах является актуальной задачей.

Цель данной работы — изучение видового (родового) разнообразия и плотности популяции нематод на территории ООО «Сады Чечни» Грозненского р-на ЧР, состава основных трофических групп нематод и соотношения в биоценозах, выявление карантинных цистообразующих видов нематод (*G. rostochiensis* и *G. pallid*).

Исследование проведено на территории ООО «Сады Чечни» Грозненского р-на ЧР. В период с 8.06 по 11.06 2009 г. с площади 16 га отобраны 35 смешанных почвенных образцов. На площади 6 га данного поля в 2008 г. высажены саженцы яблони (5 га) и вишни (1 га), остальные 10 га находились под паром.

Перечень обследованных участков и их краткое обозначение: №1 — 1А, 1В (клоновые подвои яблони, 1 га); №2 — 2А, 2В (плодовые семечковые, 1 га); №3 — 3А, 3В (плодовые семечковые, 1 га); №4 — 4А, 4В (плодовые семечковые, 1 га); №5 — 5А, 5В (плодовые семечковые, 1 га); №6 — 6А, 6В (черешня, 1 га); №7, №8, №9 — 7А, 8А, 9А, 7В, 8В, 9В (черный пар 3 га по 1 га каждый участок); №10, №11, №12 — 10А, 11А, 12А (черный пар, 1,5 га по 0,5 га каждый), №13, №14, №15 — 13А, 14А, 15А, 13В, 14В, 15В (черный пар по 1 га). Участки I — IV (А, В) — черный пар (сорняки). Почва поля — светло-каштановый чернозем,

pH=8,0—8,5. Нематоды из почвы были извлечены двумя методами: по Берману и Флэггу [1]. Всего выделено свыше 13 тыс. особей, постоянные препараты выделенных нематод приготовлены по методу Сайнхорста. Идентификацию нематод проводили по морфологическим признакам с использованием световой микроскопии. Таксономическое положение выявленных видов осуществляли согласно системе, предложенной Maggenti [2].

Выявленные нематоды распределены по 6 трофическим группам [3]. Присутствие в образцах цист *Globodera* spp. определяли методом флотации после подсушивания почвы. Жизнеспособность цист определяли методом биологического тестирования путем посадки стерильных пророщенных клубней тест-растений картофеля в зараженную цистами исследуемую почву. Определение полевой виофорности нематод-вирусоносителей семейств *Longidoridae* и *Trichodoridae* осуществляли на базе лаборатории вирусологии ВСТИСП путем биологического тестирования (по симптомам) на тест-растениях табака (*Nicotiana tabacum*) и перца красного стручкового горького (*Capsicum annuum*), высаженных в зараженную нематодами-вирусоносителями почву, и в последующем — методом ИФА (по коэффициенту экстинкции).

Плотность популяций нематод в паровых и на занятых плодowymi культурами участках парового поля клоновыми подвоями семечковых и косточковых культур (маточничеренковые поля первого года закладки) на территории маточника ООО «Сады Чечни» варьировала от 290 до 1845 особей в 100 мл почвы. Тип Nematoda в исследованном ценозе был представлен 48 родами 24 семейств, относящихся к 8 отрядам и 2 классам нематод. Кроме того, обнаруженные виды нематод были распределены по следующим 6 трофическим группам: микогельминты, мико-

фитогельминты, бактериофаги, многоядные, хищники и фитопаразиты. Последняя группа была представлена эктопаразитами (*Paratylenchus nanus*, *Paratylenchus curvatus*, *Trichodorus* sp., *Trichodorus similis*, *Tylenchorhynchus* spp., *Xiphinema brevicollum*, *Xiphinema pachtaicum*, *Xiphinema diversicaudatum*), мигрирующими эндопаразитами (*Pratylenchus crenatus*, *Pratylenchus penetrans*, *Pratylenchus pratensis*), мигрирующими полупогруженными эктопаразитами (*Rotylenchus robustus*, *Helicotylenchus* sp., *Helicotylenchus digonicus*), седентарными паразитами (*Globodera rostochiensis*, *Heterodera trifolii*, *Heterodera agropiri*) и нематодами, паразитирующими на корневых волосках и эпидермальных клетках (*Aglenchus* и *Filenchus* spp.). Таксономическое положение и трофическая принадлежность выявленных видов нематод представлена в табл. 1.

Таблица 1. Таксономическое положение и трофическая принадлежность выявленных видов нематод

Род	Таксономическая группа	Семейство	Отряд	Класс
<i>Aglenchus</i> , <i>Filenchus</i> , <i>Tylenchus</i>	ФП* МГ/ФП*	Tylenchidae	Tylenchida	Secernentea
<i>Aphelenchus</i>	МГ/ФП*	Aphelenchidae		
<i>Paratylenchus</i>	ФП	Tylenchulidae		
<i>Helicotylenchus</i> , <i>Rotylenchus</i>	ФП	Hoplolaimidae		
<i>Heterodera</i>	ФП	Heteroderidae		
<i>Paraphelenchus</i>	МГ	Paraphelenchidae		
<i>Pratylenchus</i>	ФП	Pratylenchidae		
<i>Tylenchorhynchus</i>	ФП	Belonolaimidae		
<i>Acrobeles</i> , <i>Acrobeloides</i> , <i>Cephalobus</i> , <i>Chiloplacus</i> , <i>Eucephalobus</i>	Б	Cephalobidae	Rhabditida	
<i>Panagrolaimus</i>	Б	Panagrolaimidae		
<i>Pelodera</i> , <i>Rhabditis</i>	Б	Rhabditidae		
<i>Diplogaster</i>	МН	Diplogasteridae	Diplogasterida	
<i>Anaplectus</i> , <i>Plectus</i> , <i>Wilsonema</i>	Б	Plectidae	Araeolaimida	Adenophorea
<i>Alaimus</i> , <i>Amphidelus</i>	Б	Alaimidae	Dorylaimida	
<i>Agmodorus</i> , <i>Doryllium</i>	МГ	Leptonchidae		
<i>Mesodorylaimus</i> , <i>Prodorylaimus</i> , <i>Dorylaimus</i> , <i>Thornenema</i>	МН	Dorylaimidae		
<i>Aporcelaimus</i>	X/МН	Aporcelaimidae		
<i>Belondira</i>	МН	Belondiridae		
<i>Discolaimoides</i> , <i>Discolaimus</i>	X	Discolaimidae		
<i>Eudorylaimus</i> , <i>Kochinema</i> , <i>Qudsianema</i> , <i>Witoldinema</i> , <i>Labronema</i>	МН МН X/МН	Qudsianematidae		
<i>Enchodelus</i> , <i>Enchodorella</i>	МН	Nordiidae		
<i>Longidorus</i> , <i>Xiphinema</i>	ФП	Longidoridae		
<i>Brachonchulus</i> , <i>Mononchus</i> , <i>Mylonchulus</i>	X	Mononchidae	Mononchida	
<i>Trichodorus</i>	ФП	Trichodoridae	Triplonchida	

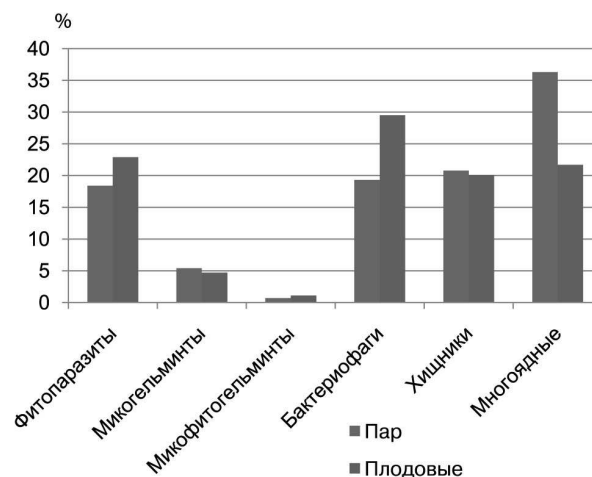
Примечание. ФП — фитопаразиты, ФП* — фитопаразиты неспецифического патогенного эффекта, МГ — микогельминты, Б — бактериофаги, МН — многоядные, X — хищники

Установлено, что фауна нематод паровых полей и насаждений яблони и вишни была сходна по видовому составу, отмечено лишь различие в соотношении трофических групп (рис.). Наиболее многочисленными по количеству особей

трофическими группами нематод в условиях парового поля были многоядные (36,3%), хищники (20,8%), бактериофаги (18,4%) и фитопаразиты (18,4%). В ризосфере насаждений на участке под высаженными плодовыми культурами преобладали бактериофаги (29,5%), фитопаразиты (22,9%) и многоядные (21,7%). Соотношение трофических групп нематод в паровых полях и в насаждениях плодовых культур (в %) представлено на рис.

Кроме того, в результате анализа почвенных образцов из ЧР обнаружены нематоды-вирусоносители семейств Longidoridae и Trichodoridae. В результате биологического и ИФА тестирования почвенных образцов, отобранных на земельных участках ООО «Сады Чечни» и предназначенных под закладку маточников клоновых подвоев семечковых и косточковых культур, маточно-привойных, маточно-черенковых и маточно-семенных садов на общей площади 16 га, выявлены методом ИФА два неповируса — мозаики резухи (AMV) и черной кольчатости томата (TomBRV) и один садвавирус — латентной кольцевой пятнистости земляники (SLRSV).

Средняя зараженность участка вирофорными нематодами составила 30%, из которых вирусы AMV и SLRSV выявлены на участке, занятом семечковым садом первого года посадки и на паровом участке (№5А и №7А) соответственно, а вирус TomBRV выявлен на 7 участках, в т.ч. с достоверно высоким коэффициентом экстинкции на трех участках — с высаженными клоновыми подвоями (№1), семечковыми плодовыми (№2) и на паровом поле (№15).



Соотношение трофических групп нематод в паровых полях и в насаждениях плодовых культур (%) в условиях маточно-черенкового сада ООО «Сады Чечни»

В связи с диффузным распространением нематод-вирусоносителей семейства Longidoridae (*Longidorus elongatus*, *Xiphinema diversicaudatum*, *X. pachtaicum*, *X. brevicollum*) по всему исследуемому земельному участку и в связи с наличием сорной растительности на большинстве участков под паром, мы можем предполагать, что циркуляция неопи и садвавирусной инфекции на исследуемом участке может происходить посредством сложившейся ранее экосистемы: «неповирусы — сорняки — растения-хозяева (плодовые и ягодные культуры)». Путем использования методов биологического тестирования и ИФА установлено наличие вирусов групп NEPO (ArMV, TBRV) и SADWA (SLRSV) в отобранных растительных образцах растений-индикаторов, выращиваемых на зараженной почве, содержащей нематоды-вирусоносители (*Xiphinema diversicaudatum*), что напрямую указывает на их вирофорность. При этом процент зараженных неопи и садвавирусами при высоком уровне коэффициента экстинкции варьировал от 3 до 7% исследованных растений-индикаторов. Колебания уровня коэффициента экстинкции достигали при этом от 1,7 до

3,6 в случае выявления саджавируса (SLRSV) и определения полевой вирофорности его вектора — *Xiphinema diversicaudatum* и от 1,8 до 2,6 в случае выявления непомовирусов (ArMV, TBRV) и определения полевой вирофорности их вектора — *Xiphinema diversicaudatum* (табл. 2). Присутствие вирусов RaRSV не было обнаружено ни при использовании метода биотестирования, ни при использовании метода ИФА. В связи с обнаружением нематод семейства Trichodoridae (*Trichodorus similis*) — переносчиков тобравирусов проведено биотестирование, но симптомов тобравирусов (TRV) на обоих видах-индикаторах не наблюдали и в связи с этим ИФА не проводили.

Таблица 2. Результаты иммуноферментного анализа (ИФА) кормовых растений-индикаторов после 2-мес. выращивания их в почве, инфицированной нематодами-переносчиками вирусов				
Место отбора почвенных образцов	Вирусоноситель	Вирус	Коэффициент экстинкции	Зараженные растения-индикаторы, %
Саженьцы яблони	<i>Xiphinema diversicaudatum</i>	ArMV	2.6	3.0
Пар		SLRSV	3.6	3.0
Саженьцы яблони		SLRSV	1.7	3.0
Саженьцы яблони		TBRV	2.0	7.0
Пар		TBRV	1.8	3.9

Исследуемый вид нематоды-вектора (*Xiphinema diversicaudatum*) и связанные с данным видом вирусы ArMV, SLRSV и TBRV выявлены на территории Чеченской Республики впервые. Виды других нематод-вирусоносителей *Trichodorus similis*, *Longidorus elongatus*, *Xiphinema brevicollum*, *Xiphinema pachtaicum*, присутствующие в исследованных образцах, не вызывали характерных симп-

томов непо- и тобравирусов на растениях-индикаторах и не были выявлены методом ИФА. В связи с этим, нами сделан вывод о наличии в образцах вирофорных нематод только в отношении вида *X. diversicaudatum*.

Кроме того, в большинстве образцов (в 30 из 35) констатируется наличие цист карантинного объекта *Globodera rostochiensis*. Содержание цист варьировало от 12 до 344 шт./100 мл почвы. При этом жизнеспособность цист была подтверждена методом биологического тестирования с использованием оздоровленного биотеста (*Solanum tuberosum*). Лишь в 4 почвенных (из 30 проанализированных) образцах наблюдали выход жизнеспособных инвазионных личинок *Globodera rostochiensis*.

Таким образом, в результате лабораторных и полевых исследований изучены особенности формирования нематодовирусного фитопатоконтекста в условиях занятого и незанятого пара на примере закладки маточных насаждений плодовых культур в ООО «Сады Чечни». Установлено, что ряд опасных групп вирусов (непо- и садва-) и паразитических нематод, включая карантинный объект *Globodera rostochiensis* (цистообразующую золотистую картофельную нематоду), другие виды седентарных нематод, а также корневые эндо- и эктопаразитические нематоды (ранящие и перфораторы) сохраняли свою активность на протяжении года на парующих участках и имели как очаговое, так и диффузное пространственное распространение по всему исследуемому полю. В результате биологического тестирования продемонстрировано, что переносчики непо- и садвагрупп вирусов — нематоды семейства Longidoridae — способны поддерживать активность вирусов на протяжении парования в течение года. На занятых участках парового поля саженьцами семечковых и косточковых плодовых культур численность паразитических нематод превышала известные пороги вредоносности уже в первый год после их посадки. [7]

Литература

1. Flegg J.J.M. Extraction of *Xiphinema* and *Longidorus* species from soil by a modification of Cobb's decanting sieving technique // Ann. Biol. 1967. Vol. 60. — P. 429—437.
2. Maggenti, A. R. Nematode: Higher Classification. Chapter 5 in Manual of Agricultural Nematology, W. R. Nickle, Ed., Marcel Dekker, Inc. New York. 1991. — P. 147—187.
3. Yeates G. W., Bongers T., de Goede R. G. M., Freckman D. W. & Georgieva S.S. Feeding habits in soil nematode families and genera — an outline for soil ecologists // Journal of Nematology. 1993. Vol. 25. — P. 315—331.