

УДК 576.895.132

**ЛЮБОВЬ ПАВЛОВНА ЕВСТРАТОВА**

доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры зоотехнии, рыбоводства, агрономии и землеустройства Института биологии, экологии и агротехнологий, Петрозаводский государственный университет (Петрозаводск, Российская Федерация)  
levstratova@yandex.ru

**ОЛЬГА ВЛАДИМИРОВНА СИНКЕВИЧ**

кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, Карельский филиал Всероссийского центра карантина растений (ФГБУ «ВНИИКР») (Петрозаводск, Российская Федерация)  
ovbio@mail.ru

**ИВАН ВАЛЕРЬЕВИЧ ЕВСТРАТОВ**

аспирант кафедры зоотехнии, рыбоводства, агрономии и землеустройства Института биологии, экологии и агротехнологий, Петрозаводский государственный университет (Петрозаводск, Российская Федерация)  
ivevstratova@yandex.ru

## РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ КАРТОФЕЛЬНОЙ ЦИСТООБРАЗУЮЩЕЙ НЕМАТОДЫ В АГРОЛАНДШАФТАХ РЕСПУБЛИКИ КАРЕЛИЯ

Изучено распространение карантинного объекта – *Globodera rostochiensis* Woll. – возбудителя глободероза картофеля на территории 16 муниципальных районов Республики Карелии (РК) за период 2012–2016 годов. Отбор почвенных проб проводили на земельных участках разных форм собственности: сельскохозяйственных предприятий, личных подсобных (ЛПХ) и крестьянских фермерских (КФХ) хозяйств. Цисты нематод выделяли вороночным методом. Для работы использовали жизнеспособные цисты. Идентификацию *G. rostochiensis* проводили с помощью морфометрического и молекулярного методов анализа. Результаты исследований показали, что в сельскохозяйственных предприятиях и КФХ доля зараженных глободерозом почв не превышала 46,7 %. При этом часть обследованных площадей Олонецкого, Прионежского и Сортавальского районов свободна от фитогельминта. Максимальная зараженность почв установлена в ЛПХ. Так, в Муезерском, Сегежском, Пудожском, Кондопожском, Питкярантском и Суоярвском районах процент таких почв достигал 71...100. На основе анализа вульварных пластинок установлена принадлежность цистообразующих нематод к виду *G. rostochiensis*, индекс Гранека варьировал от 2,3 до 8,7 мкм. На территории Карелии расширение ареала картофельной цистообразующей нематоды связано с использованием восприимчивых сортов, отсутствием нематодицидов, нарушением карантинных мероприятий и др.

Ключевые слова: картофельная цистообразующая нематода, морфометрический и молекулярный (ПЦР-Flash) методы диагностики, пространственное распространение *G. rostochiensis*

### ВВЕДЕНИЕ

В почвах Карелии встречаются виды цистообразующих нематод семейства *Heteroderidae*, среди которых наибольшее распространение получил вид *Globodera rostochiensis* (Wollenweber, 1923) Behrens, 1975 [1], являющийся объектом внутреннего и внешнего карантина растений. На территории республики картофельная цистообразующая нематода впервые была выявлена в 1976 году [4], и за 30 последующих лет ареал ее распространения продвинулся до 67° с. ш. [2]. Для предотвращения дальнейшего распространения картофельной цистообразующей нематоды установлен карантинный фитосанитарный режим, запрещающий вывоз культурных растений в другие регионы страны<sup>1</sup>.

Потери урожая картофеля от картофельной цистообразующей нематоды составляют 30,

а иногда 80...90 % [6]. Особенно большой ущерб глободероз причиняет при возделывании культуры в ЛПХ. Нарушения технологии выращивания (несоблюдение севооборота, отсутствие нематодицидов, длительное использование восприимчивых сортов и др.), недостаточная информированность населения о карантинном объекте и способах его распространения являются основными причинами увеличения зараженности земельных участков. Иначе обстоит дело в КФХ и сельскохозяйственных предприятиях, которые предпринимают меры по предотвращению заноса фитогельминта и локализации очагов его распространения, поэтому здесь доля зараженных площадей и снижение урожая картофеля гораздо меньше.

В настоящее время для идентификации цистообразующих нематод широко используют

морфометрический и молекулярный методы диагностики [3]. При определении фитогельминтов по морфологическим признакам (форма, длина и ширина тела цисты и др.) в случае принадлежности их к карантинным объектам (*G. rostochiensis*, *G. pallida*) дополнительно привлекают молекулярные методы. Так, в отношении *G. rostochiensis* в ФГБУ «ВНИИКР» по РК применяют ПЦР-Flash, который основан на различиях в строении ДНК тестируемого и контрольного объектов. На основе результатов ПЦР-амплификации ДНК делают вывод о видовой принадлежности анализируемого образца.

Цель настоящей работы – изучить современное состояние распространенности *G. rostochiensis* в агроландшафтах Карелии и подтвердить ее видовую принадлежность при проведении фитогельминтологического анализа.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работу проводили в течение 2012–2016 годов на базе Карельского филиала ФГБУ «ВНИИКР». Материал для исследования – жизнеспособные цисты нематоды, выделенные из образцов почвы, отобранных с земельных участков сельскохозяйственных предприятий, КФК и ЛПХ РК. Почвенные пробы отбирали согласно методическим рекомендациям<sup>2</sup>. Цисты из почвы выделяли вороночным методом, видовую принадлежность устанавливали путем проведения морфометрического анализа<sup>3</sup>. На основе изготовленных анально-вульварных пластинок определяли наличие V-образной кутикулярной складки между анусом и вульвой, а также рассчитывали индекс Гранека. Исходя из нашего опыта, вышеуказанный метод целесообразно применять при большом числе цист (5 и более цист/100 см<sup>3</sup>) в пробе почвы. Этот метод предполагает приготвление нескольких качественных анально-вульварных пластинок от одного образца. При единичном обнаружении цист изготовление микропрепарата довольно затруднительно, поэтому, согласно

стандарту<sup>4</sup>, целесообразно использовать молекулярный метод диагностики с флуоресцентной детекцией результатов ПЦР-амплификации ДНК непосредственно после завершения реакции.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Земельные ресурсы РК по почвенно-климатическим условиям делят на три зоны. Северная зона, наименее освоенная в сельскохозяйственном отношении, включает Лоухский, Кемский, Муезерский, Сегежский, Беломорский муниципальные районы, Калевальский городской округ. Наиболее благоприятными для возделывания картофеля являются центральная (Медвежьегорский, Пудожский, Кондопожский и Суоярвский муниципальные районы) и южная (Прионежский, Пряжинский, Олонецкий, Питкярантский, Лахденпохский, Сортавальский муниципальные районы, Петрозаводский городской округ) зоны.

За последние пять лет фитогельминтологическому обследованию были подвергнуты земельные участки на территории 16 муниципальных районов РК, причем максимальное количество площадей было проверено в 2012 году. Меньше всего обследованных площадей приходится на северную зону, где отсутствуют сельскохозяйственные предприятия и сокращены объемы выращивания картофеля в ЛПХ. По данным территориального управления Россельхознадзора, на 01.01.2015 на территории РК картофельная цистообразующая нематода зарегистрирована на площади 145,6 тыс. га<sup>5</sup>.

Анализ почвенных образцов, отобранных с земельных участков хозяйствующих субъектов различных форм собственности, показал неоднородность распространения картофельной цистообразующей нематоды на территории республики (табл. 1, 2). Так, в сельскохозяйственных предприятиях и КФХ на долю зараженных глобдерозом почв приходилось до 46,7 % площадей. Наибольшее распространение *G. rostochiensis* выявлено в почвах центральной и южной зон

Таблица 1

Динамика встречаемости цист нематоды в почвах сельскохозяйственных предприятий и крестьянских фермерских хозяйств РК, % (по данным ФГБУ «ВНИИКР» по РК, 2012–2013, 2015–2016 годы)

Административный район	Год исследования			
	2012	2013	2015	2016
Кондопожский	46,7	0,0*	–	0,0
Медвежьегорский	35,9	–	–	49,1
Олонецкий	6,8	19,9	0,0	14,3
Прионежский	3,6	7,8	3,1	0,0
Пряжинский	41,0	6,5	0,0	5,1
Сортавальский	7,5	5,0	–	0,0
Питкярантский	–	–	–	0,00

Примечание. \* – 0,0 – отсутствие цист нематоды в обследуемых почвах, «–» – отсутствие обследованных площадей.

**Таблица 2**

Динамика встречаемости цист нематоды в почвах личных подсобных хозяйств РК, % (по данным ФГБУ «ВНИИР» по РК, 2012–2016 годы)

Административный район	Год исследования				
	2012	2013	2014	2015	2016
Беломорский	61,2	–	–	–	–
Калевальский	73,6	–	–	–	–
Кемский	60,0	–	–	–	–
Кондопожский	86,9	90,0	97,9	93,7	–
Лахденпохский	84,2	80,0	33,3	67,5	90,0
Лоухский	64,7	–	–	–	–
Медвежьегорский	61,5	87,2	68,0	97,1	100
Муезерский	95,4	100,0	–	–	–
Олонецкий	68,8	15,0	71,4	52,5	57,9
Прионежский	54,3	96,7	79,5	91,8	78,8
Пряжинский	88,4	81,5	86,7	65,2	–
Пудожский	84,1	85,4	81,2	88,5	71,0
Сегежский	95,8	96,1	100,0	–	–
Сортавальский	41,0	46,8	–	–	–
Суоярвский	87,5	94,3	–	87,1	–
Питкярантский	75,0	75,0	85,7	93,5	69,5

Примечание. «–» – отсутствие обследованных площадей.

(Кондопожском, Пряжинском и Медвежьегорском районах). Часть обследованных площадей Олонецкого, Прионежского и Сортавальского районов свободны от фитогельминта. В ЛПХ установлены более широкое распространение нематоды и наличие очагов глободероза, особенно в почвах Кондопожского, Сегежского, Суоярвского районов. Здесь в различные годы обследования площадей доля зараженных почв варьировала от 86,9 до 100 %.

По результатам фитогельминтологического анализа установлены особенности морфологии цист карельской популяции *G. rostochiensis* (табл. 3).

Размеры цист нематоды карельских популяций *G. rostochiensis* в целом соответствуют ниж-

нему порогу морфометрических параметров цист из других регионов страны и зарубежья.

Анализ анально-вulварных пластинок (рис. 1) показал принадлежность тестируемых образцов

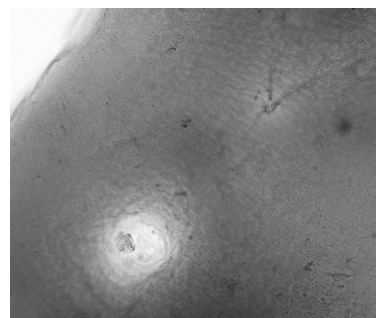


Рис. 1. Анально-вulварная пластинка цистообразующей золотистой картофельной нематоды

Морфометрические показатели выделенных цист *G. rostochiensis*

**Таблица 3**

Показатели	Литературные данные			Результаты исследований по годам			
	И. П. Казаченко, 1993 [5]	A. M. Golden, M. S. Ellington, 1972 [5]	СТО ВНИИР 6.001–2010	2013	2014	2015	2016
Длина тела (без шеи), мкм	467...725 (589)	450...990 (680)	445 ± 50	444,3	439,5	454,8	453,7
Ширина тела, мкм	430...713 (559)	250...810 (540)	382 ± 61	381,2	383,0	399,7	385,7
Отношение длины к ширине	0,9...1,3 (1,04)	1,0...1,8 (1,27)	–	1,2	1,2	1,1	1,2
Индекс Гранека	2,1...5,4 (3,7)	2,0...7,0 (4,5)	3,6 ± 0,8	2,4...8,7 (3,7 ± 0,9)	2,3...7,1 (3,6 ± 0,8)	2,7...5,1 (3,7 ± 0,9)	2,8...6,2 (3,7 ± 0,6)

## Протокол №1 22июн2015

Оператор: Синкевич О.В.  
SN\_D3V213*G.rostochiensis*

Пробирка	Образец	Результат	Специфика	ВК	
1/1	K+	+	12,50	1,74	
2/1	K-	-	0,87	9,67	
3/1	100897	+	13,40	1,15	
4/1	100898	+	9,14	6,83	
5/1	100903	+	12,90	1,04	
6/1	фон	фон	1,01	1,00	
7/1	фон	фон	0,99	1,00	

\*Нормированные значения

100,00\*

84,00\*

0

10

Примечание: 1/1 - положительный контрольный образец  
2/1 - отрицательный контрольный образец  
3/1 ... 5/1 - исследуемые образцы  
6/1 ... 7/1 - фоновые образцы

Интерпретация результатов:

+ - обнаружена ДНК исследуемого вида  
- - не обнаружена ДНК исследуемого вида

Рис. 2. Результаты Flash-ПЦР-анализа

нематоды к *G. rostochiensis*. В почвенных пробах с единичным обнаружением цист для подтверждения принадлежности цистообразующей нематоды к виду *G. rostochiensis* был проведен ПЦР-Flash-анализ, интерпретация результатов которого осуществлена по критериям, указанным на рис. 2. Согласно полученным данным, во всех проанализированных образцах обнаружена ДНК вида *G. rostochiensis*.

Таким образом, на территории Республики Карелия *G. rostochiensis* встречается повсеместно. Наибольшее распространение фитогель-

минта зарегистрировано в почвах центральной и южной зон республики. При этом только часть обследованных площадей Олонецкого, Прионежского и Сортавальского районов свободны от глободероза. В отличие от сельскохозяйственных предприятий и КФХ почвы ЛПХ наиболее заражены нематодой, особенно в Кондопожском, Сегежском, Суоярвском районах. По морфометрическим признакам и данным ПЦР-Flash-анализа выделенные цисты относятся к виду цистообразующих нематод *G. rostochiensis*.

## ПРИМЕЧАНИЯ

<sup>1</sup> Распоряжение правительства Республики Карелия от 2 февраля 2010 г. № 21 р-П. Об установлении фитосанитарного режима.

<sup>2</sup> Диагностика основных патогенов картофеля методом полимеразной цепной реакции с флуоресцентной детекцией результатов при помощи диагностических наборов производства ООО «АгроДиагностика»: Метод. указания. М., 2009. 26 с.

<sup>3</sup> СТО ВНИИКР 6.001–2010 «Картофельные цистообразующие нематоды *Globodera rostochiensis* (Woll.) Behrens и *Globodera pallida* (Stone) Behrens. Методы выявления и идентификации». М.; Быково, 2010.

<sup>4</sup> Там же.

<sup>5</sup> Справочник карантинных фитосанитарных зон на территории Российской Федерации. III. Информация об установлении территориальными управлениями Россельхознадзора карантинных фитосанитарных зон и наложении карантина на территории Российской Федерации по состоянию на 01.01.2015 г. М., 2015. С. 46–366.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Груздева Л. И., Матвеева Е. М., Суцук А. А. Разнообразие фауны нематод естественных биоценозов Карелии // Нематоды естественных и трансформированных экосистем. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2011. С. 54–56.
- Груздева Л. И., Матвеева Е. М. Расширение ареала картофельной цистообразующей нематоды на Северо-Западе России // Биоразнообразие и экология паразитов. М.: Наука, 2010. Т. 46. С. 73–82 (Труды Центра паразитологии ИПЭЭ РАН).
- Прикладная нематология / Н. Н. Буторина и др. М.: Наука, 2006. 305 с.
- Соловьева Г. И., Потаевич Е. В., Кучко Л. А., Васильева А. П. Цистообразующая картофельная нематода и меры борьбы с ней. Петрозаводск, 1980. 25 с.
- Фитопаразитические нематоды России / С. В. Зиновьева и др. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2012. 386 с.
- Шестеперов А. А. Фитогельминтологическая ситуация на посадках картофеля в центральном регионе России // Защита и карантин растений. 2012. № 5. С. 42.

Evstratova L. P., Petrozavodsk State University (Petrozavodsk, Russian Federation)  
Sinkevich O. V., Karelian Branch of Governmental Budget Institution  
“All-Russian Center on Plant Quarantine” (Petrozavodsk, Russian Federation)  
Evstratov I. V., Petrozavodsk State University (Petrozavodsk, Russian Federation)

## EXPANSION AND IDENTIFICATION OF THE POTATO CYST-FORMING NEMATODE IN AGRO-LANDSCAPES OF THE REPUBLIC OF KARELIA

The expansion of the quarantine object *Globodera rostochiensis* Woll., the disease producing factor of potato globoderesis was studied on the territory of 16 municipal districts of the Republic of Karelia in the period from 2012 to 2016. The selection of soil samples was carried out on the land plots belonging to different forms of property: agricultural enterprises, private and farm households. The nematode cysts were retrieved by the use of the funnel method. The viable cysts were used. The identification of *G. rostochiensis* was conducted with the help of morphometrical and molecular analysis methods. The research results showed that the soil share infected by globoderesis was not more than 46,7 % in agricultural enterprises and farm households. A part of the tested areas in Olonetsky, Prionezhsky, and Sortavalsky districts were free of phytohelminth. In Muyezerzsky, Segezhsky, Pudozhsky, Kondopozhsky, Pitkyarantky, and Suoyarvsky districts the percent of such soils reached from 71% to 100%. Belonging of the cyst-forming nematode to the species of *G. rostochiensis* was identified on the basis of vulvar pallets analysis. The Granik index varies from 2,3 to 8,7 mkm. On the territory of the Republic of Karelia the expansion of the areal of *Globodera rostochiensis* Woll is conditioned by the use of susceptible breeds, the lack of nematocides, violation of quarantine measures, and ets.

Key words: potato cyst-forming nematode, morphometrical and molecular diagnostic methods, *G. rostochiensis* territorial extension

### REFERENCES

1. Gruzdeva L. I., Matveeva E. M., Sushchuk A. A. *Raznoobrazie fauny nematod estestvennykh biotsenozov Karelii* [Diversity of nematode fauna in natural biocenoses of Karelia]. Petrozavodsk, Karel'skiy nauchnyy tsentr RAN Publ., 2011. P. 54–56.
2. Gruzdeva L. I., Matveeva E. M. *Rasshirenie areala kartofel'noy tsistoobrazuyushchey nematody na Severo-Zapade Rossii* [Expansion of potato cyst nematode in Northwest Russia]. Moscow, Nauka Publ., 2010. Vol. 46. P. 73–82.
3. *Prikladnaya nematologiya* [Applied Nematology]. N. N. Butorina et al. Moscow, Nauka Publ., 2006. 305 p.
4. Solov'eva G. I., Potavich E. V., Kuchko L. A., Vasil'eva A. P. *Tsistoobrazuyushchaya kartofel'naya nematoda i mery bor'by s ney* [On the potato Cyst nematode and measures to combat it]. Petrozavodsk, 1980. 25 p.
5. *Fitoparaziticheskie nematody Rossii* [Plant parasitic nematodes of Russia]. S. V. Zinov'eva et al. Moscow, Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK Publ., 2012. 386 p.
6. Shesteporov A. A. Phytohelminthological the situation of the potato crop in the central region of Russia [Fitogel'mintologicheskaya situatsiya na posadkakh kartofelya v tsentral'nom regione Rossii]. *Zashchita i karantin rasteniy*. 2012. № 5. P. 42.

Поступила в редакцию 27.03.2017