

УДК 632.651

Ану РИИСПЕРЕ

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО РЕЖИМА ВЫРАЩИВАНИЯ РАСТЕНИЯ-ХОЗЯИНА НА РАЗВИТИЕ КАРТОФЕЛЬНОЙ НЕМАТОДЫ

Из экологических факторов, влияющих на взаимоотношения фитонематод и их растений-хозяев, наиболее изученным является температурный. Как известно, картофельная нематода *Globodera rostochiensis* приспособлена к прохладному климату («kühlstenotherm») (Kämpfe, 1962), температуры выше 30°C начинают тормозить развитие личинок (Fenwick, 1951; Kämpfe, 1962). Оптимальными для их развития считают 16—24°C (Trudgill, 1970; Franco, 1979; Ferris, 1957), для движения личинок в почве и инвазии в корни 15—16°C (Foot, 1978; Franco, 1979), для вылупления яиц 21—25°C (Ellenby, Smith, 1975).

При изучении приспособляемости нематод к температурным условиям среды пользуются термином «heat unit», т. е. температура выше 10°C, действующая в течение часа, считается эффективной единицей количества тепла (Droopkin, 1963). Установлено, что нематоды испытывают на различных стадиях развития различную потребность в количестве тепла. Например, самого большого числа «heat unit» требует завершение стадии J4→ad (*Heterodera schachtii*) (Griffin, 1982).

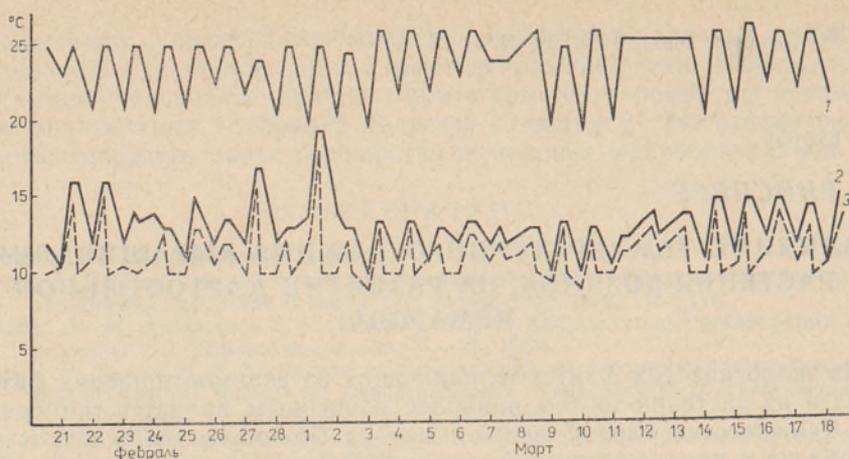
Температурные условия среды оказывают на хозяино-паразитные отношения нематод и их растений-кормителей большее влияние, чем все остальные экологические факторы. Есть данные о потере устойчивости к галловой нематоде некоторых сортов томата при повышении температуры среды от 28 до 30°C (Droopkin, 1969; Агауцо и др., 1982), а также к стеблевой нематоде сортов люцерны при температуре выше 30°C (Grundbacher, Stanford, 1962). Предполагается, что повышение температуры вызывает определенные сдвиги в метаболизме растений, в результате чего улучшаются условия питания паразитов (Heitefuss, 1966). Условия среды, влияющие как на развитие и размножение нематод, так и на состояние растения-хозяина, объясняют различия в потребности оптимальных температур для отдельных видов нематод (Wallace, 1963).

Настоящая статья служит продолжением наших работ по изучению роли функционального состояния хозяина на хозяино-паразитные отношения между растениями и нематодами (Рийспере, 1988, 1989). Здесь представляются результаты вегетационных опытов по изучению влияния различных температурных режимов на развитие и размножение картофельной нематоды в восприимчивом и устойчивом сортах картофеля.

Материал и методика

Опыты в песчаных культурах (Рийспере, 1979) проводили в двух вегетационных камерах с температурой воздуха 21—27°C и 11—17°C (в песке среднесуточные температуры 23—25°C и 12—15,5°C соответственно) (рис. 1).

Кроме этих двух вариантов использовали предварительно охлажденный питательный раствор, при помощи которого достигались среднесуточные температуры песка от 10,3 до 12,7°C (третий вариант). Растения восприимчивого сорта 'Сулев' и устойчивого к патотипу R₀₁ сорта



Среднесуточные температуры в вегетационных сосудах на протяжении опыта. 1 — 23—25 °С; 2 — 12—15,5 °С; 3 — 10,3—12,7 °С.

‘Спекула’ заражали личинками картофельной нематоды по стандартизированной нами методике (Рийспере, 1979). Растения до заражения выращивали в песке при температуре 23—25 °С, после 4-дневной инкубации растения с личинками распределяли по вариантам с указанными температурными режимами. Измерение температуры в вегетационных сосудах производили три раза в день. После окончания опыта (26 дней) растения взвешивали, корни фиксировали в смеси этанол—уксусная кислота—формалин—вода (15:1:6:40) и окрашивали кислым фуксином в лактофеноле. В корнях подсчитывали количество нематод по стадиям развития. Во всех вариантах опыта участвовало по 8 растений. Результаты анализа обрабатывали статистически методом дисперсионного анализа, достоверность различий между вариантами определяли по F-критерию.

В целях установления функционального состояния растений при указанных температурных режимах параллельно выращивали и незараженные растения. В незараженных корнях измеряли активность пероксидазы (колориметрически по окислению гваякола), содержание растворимого белка и нитратного азота (колориметрически с реактивом Фолина и дисульфифенольным методом соответственно). Активность энзима определяли в свежем материале, содержание белка и нитратов в замороженных жидким азотом корней.

Результаты опытов

Наиболее благоприятные условия для развития картофельной нематоды в растениях картофеля зафиксированы при температурах 23—25 °С (табл. 1). Понижение температуры вызывало увеличение соотношения самцы/самки среди инвазированных личинок. Непосредственное влияние температуры отражалось и на скорости развития нематод. При 12—15,5 °С и 10,3—12,7 °С существенно замедлилось формирование адултов. Хотя личинкам картофельной нематоды характерна выносливость в отношении низких температур, однако, несмотря на замедленное развитие число особей в корнях не уменьшалось. Для сравнения приведем пример о влиянии соответствующих температур на развитие клеверной нематоды (Рийспере, Роосма, 1985). Так при 12—15,5 °С число нематод

Развитие картофельной нематоды при различных температурах в среде корней

Среднесуточные температуры песка	Количество нематод в 8 растениях								Сырой вес одного растения, г	
	Всего	Личинки		Самцы		Самки		Надземные части	Корни	
		II ст.	III ст.	IV ст.	Адулты	IV ст.	Молодые			Цисты
'Сулев'										
23—25 °С	1816	—	—	—	163	7	54	1592	3,09	3,59
12—15,5 °С	1750	—	4	616	324	295	509**	1	3,09	3,85
10,3—12,7 °С	1825	—	5	1073	187	150	410**	—	5,56**	2,46
'Спекула'										
23—25 °С	94	—	—	2	92	—	—	—	3,47	2,95
12—15,5 °С	305*	—	—	35	270	—	—	—	1,73**	3,17
10,3—12,7 °С	234	—	4	89	141	—	—	—	4,64*	5,94*

* $P=0,05$.** $P=0,01$.

в корнях белого клевера уменьшилось в шесть раз по сравнению с их численностью при температурах 25—25 °С. Выражая наши температурные условия в «единицах тепла», получим соответствующие числа: режим 23—25 °С — 8736, режим 12—15,5 °С — 2309, режим 10,3—12,7 °С — 1872.

Опубликованные данные о различной потребности личинок в энергии для совершения отдельных стадий развития подтверждаются и результатами наших опытов с картофельной нематодой. Понижение температуры сказывается прежде всего на формировании самок уже в стадии J IV. При этом представляет интерес доля стагнирующих особей среди самок и самцов: при 23—25 °С соответственно 0 и 0%; 12—15,5 °С — 17 и 17%; 10,3—12,7 °С — 35 и 0,8%.

В проведенных нами опытах количество нематод в корнях устойчивого сорта 'Спекула' при режимах 12—15,5 °С и 10,3—12,7 °С увеличилось, увеличилось также число развивающихся в адултные самцы особей. В то же время растения этого сорта не потеряли своей генетической устойчивости к патотипу Ro 1, а именно, среди развивающихся личинок самок не образовалось. Интересно отметить, что такое же явление — повышение зараженности генетически несовместимых растений — наблюдалось и в опытах с клеверной нематодой (Рийспере, Роосма, 1985). При температурах 12—15,5 °С зараженность устойчивого розового клевера 'Йыгева 2' повысилась более чем в 4 раза, причем развитие личинок остановилось в стадии J IV. В связи с вышеизложенным следует еще раз остановиться на уже упомянутом нами двухфазовом характере формирования взаимоотношений между нематодами и их растениями-хозяевами, который заключается в следующем: закладка питательных отношений, зависящая больше от физиологического состояния растения-хозяина, и дальнейшее развитие личинок, особенно формирование самок, определяются генетической совместимостью паразита и хозяина (Рийспере, 1988).

Данные о функциональном состоянии растений-хозяев (табл. 2) показывают, что понижение температуры не вызывает задержки роста картофеля, наоборот, при охлаждении питательного раствора (режим 10,3—12,7 °С) рост надземных частей даже стимулируется. Активизация метаболизма корней при понижении температур выражается в увеличении

Влияние температурной среды корней на физиологическое состояние незараженных растений картофеля

Среднесуточные температуры песка	Сырой вес одного растения, г		Активность пероксидазы, E	Растворимый белок, мг/1 г сырого веса	Нитратный азот, мг/1 г сырого веса
	Надземная часть	Корни			
'Сулев'					
23—25 °С	3,76	2,97	0,600	0,93	5,3
12—15,5 °С	2,89	2,62	0,695		
10,3—12,7 °	6,26*	3,42	0,870	1,18	15,9
'Спекула'					
23—25 °С	2,71	2,20	0,585	0,62	6,9
12—15,5 °С	2,87	2,77	0,942	1,24	7,8
10,3—12,7 °С	6,11*	2,86	0,985	1,18	17,5

* $P=0,01$.

биомассы и повышении содержания растворимого белка, хотя, в то же время, повышение активности «аварийного энзима», пероксидазы, свидетельствует о накоплении интермедиагов, т. е. о задержке в некоторых путях синтеза и о сдвигах в метаболизме корней. Увеличение содержания растворимого белка и активности пероксидазы рассматривают как процесс адаптации растений к низким температурам (Родченко и др., 1988). Однако необходимо отметить, что повышение активности пероксидазы в корнях устойчивых растений не является препятствием для увеличения зараженности корней при пониженных температурах. Подтверждением этого факта является отсутствие связи между нематодоустойчивостью растений и активностью указанного энзима.

Имеются ссылки на одновременное повышение интенсивности синтеза белка и увеличение содержания аланина и аспарагина в корнях при понижении температуры от 25 до 12 °С (Алехина, Ключикова, 1983; Алехина, Ширшова, 1985). Оба эти явления связывают с обогащением корней нитратами в результате уменьшения интенсивности транспирации в условиях пониженных температур (Алехина, Ключикова, 1986). Интересно отметить, что многократное повышение содержания нитратов в корнях при температурном режиме 10,3—12,7 °С имело место и в наших опытах. Это явление можно объяснить не только уменьшением восстановительной способности корней при понижении температур, но и уменьшением оттока нитратов в надземные части. Полученные нами данные позволяют заключить, что метаболическая активность корней картофеля при пониженных температурах не подавлялась, в связи с чем создавались необходимые условия для питания этих биотрофных нематод. Резкое уменьшение числа самок в восприимчивых растениях при температурном режиме 12—15,5 °С является следствием недостаточной обеспеченности личинок тепловой энергией, необходимой для завершения развития самок и образования яиц.

В этой связи представляет интерес вопрос о зависимости генетической устойчивости растений от температурных условий среды (Dorrip, 1969; Агаццо и др., 1982). В наших опытах с картофельной нематодой генетическая устойчивость сорта 'Спекула' к патотипу Ro1 (ген H₁) сохранилась во всех испытанных вариантах. Максимальные температуры в субстрате не превышали 26,5 °С. Расоспецифическая устойчивость этого сорта также сохранилась в опытах, проведенных нами в вегета-

ционном домике при температуре субстрата до 32°C. Эти данные доказывают независимость данного типа устойчивости растений картофеля, сообщаемой геном Н₁, от температуры. Однако в случаях потери устойчивости растений томата к галловой нематоде при температуре 30°C имеется в виду не абсолютная устойчивость (полное отсутствие нового поколения), а частичная: в корнях погибло около 90% особей, остальные развивались до адультной стадии и дали новое поколение. Таким образом, эти растения можно считать слабовосприимчивыми. По данным литературы, взаимоотношения между паразитом и хозяином подчиняются экзогенным воздействиям только при совместной комбинации, т. е. при генетически определенной восприимчивости хозяина (Heitefuss, 1966). Молекулярные основы изменений устойчивости растений к паразитам следует искать в конформационных изменениях белковых молекул, происходящих под влиянием повышения температуры до определенного предела. Изменения конформации белковой молекулы, часто весьма незначительные, могут существенно отражаться на скорости ее протеолитического гидролиза (Александров, 1975). При умеренной денатурации (30°C) белки могут стать более доступными для разлагающих энзимов паразита (Жоли, 1968). В связи с этим необходимо сослаться на работу, в которой установлено наличие у фитонематод нескольких электроморф расщепляющих энзимов (аллоэстераз), различающихся по термоустойчивости, а также по требуемому количеству активационной энергии (Janati и др., 1982). Последнее обстоятельство делает питание нематод зависящим от температуры среды.

Выводы

1. Развитие и размножение картофельной нематоды протекает оптимально при температурах 23—25°C. Хотя картофельная нематода приспособлена к прохладному климату, ее развитие существенно замедляется при понижении температур до 10—15°C.

2. Температура среды влияет на развитие нематод как непосредственно, обеспечивая их необходимой для морфогенезиса тепловой энергией, так и косвенно (через процессы питания), обеспечивая расщепляющие энзимы требуемым количеством активационной энергии и вызывая конформационные изменения в белковых компонентах растения-хозяина.

3. Абсолютная расоспецифическая устойчивость сортов картофеля к патотипу Ro1 под действием температур не изменяется, что подтверждается независимостью этого типа устойчивости от физиологического состояния растения-хозяина. При условиях, способствующих питанию нематод, их число повышается и в устойчивых растениях, но, несмотря на это личинки не способны завершить полный цикл развития. На основе этого можно заключить, что расоспецифическая устойчивость в данном случае имеет не количественный, а качественный характер.

ЛИТЕРАТУРА

- Александров В. Я. Клетки, макромолекулы и температура. Л., 1975.
Алехина Н. Д., Клейкова А. И. Способность проростков озимой пшеницы усваивать азот при пониженной температуре в зоне корней // Физиол. растений, 1983, 30, № 6, 1171—1179.
Алехина Н. Д., Клейкова А. И. Усвоение азота растениями при пониженной температуре // Физиол. растений, 1986, 33, № 2, 372—386.
Алехина Н. Д., Ширшова Е. Д. Синтез аланина в корнях проростков кукурузы при пониженной температуре // Физиол. растений, 1985, 32, № 4, 702—709.
Жоли М. Физическая химия денатурации белков. М., 1968.

- Рийспере А. Ю.* К вопросу экспериментального изучения постинвазионных взаимоотношений между фитонематодами и растениями // Принципы и методы изучения взаимоотношений между паразитическими нематодами и растениями. Тарту, 1979.
- Рийспере А.* Влияние уменьшения ассимиляционной поверхности и интенсивности освещения растения-хозяина на развитие картофельной нематоды // Изв. АН ЭССР. Биол. 1988, 37, № 1, 36—43.
- Рийспере А.* Влияние водного режима растения-хозяина на развитие картофельной нематоды // Изв. АН Эстонии. Биол., 1989, 38, № 4.
- Рийспере А. Ю., Роосма Э. П.* Влияние температурного режима среды на развитие картофельной и клеверной нематод // Защита растений в республиках Прибалтики и Белоруссии. Тез. докл. науч.-произв. конф. Ч. I. Таллинн, 1985, 231—232.
- Родченко О. П., Маричева Э. А., Акимова Г. П.* Адаптация растущих клеток корня к пониженным температурам. Новосибирск, 1988.
- Araujo, M. T., Bassett, M. J., Augustine, J. J., Dickson, D. W.* Effect of diurnal changes in soil temperatures on resistance to *Meloidogyne incognita* in tomato // J. Nematol., 1982, 14, N 3, 414—416.
- Dropkin, V. H.* Effect of temperature on growth of root-knot nematodes on soybeans and tobacco // Phytopathology, 1963, 53, N 6, 663—666.
- Dropkin, V. H.* The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistant to *Meloidogyne*: reversal by temperature // Phytopathology, 1969, 59, N 11, 1632—1637.
- Ellenby, C., Smith, L.* Temperature adaptation in the potato cyst nematode, *Heterodera rostochiensis* // Nematologica, 1975, 21, N 1, 114—115.
- Fenwick, D. W.* The effect of temperature on the development of the potato-root eelworm, *Heterodera rostochiensis* // Ann. Appl. Biol., 1951, 38, 615—617.
- Ferris, J. M.* Effect of soil temperature on the life cycle of the golden nematode in host and nonhost species // Phytopathology, 1957, 47, N 4, 221—230.
- Foot, M. A.* Temperature responses of three potato-cyst nematode populations from New Zealand // Nematologica, 1978, 24, N 4, 412—417.
- Franco, J.* Effect of temperature on hatching and multiplication of potato cyst nematodes // Nematologica, 1979, 25, N 2, 237—244.
- Griffin, G. D.* The importance of soil temperature on the host-parasite relationship of *Heterodera schachtii* on sugarbeet // Nematologica, 1982, 28, N 2, 148.
- Grundbacher, F. J., Stanford, E. H.* Effect of temperature on resistance of alfalfa to the stem nematode (*Ditylenchus dipsaci*) // Phytopathology, 1962, 52, N 8, 791—794.
- Heitefuss, R.* Untersuchungen über die Physiologie des temperaturgesteuerten Vertraglichkeitsgrade von Weizen und *Puccinia graminis*. II. Veränderung des Nucleinsäurestoffwechsels // Phytopathol. Z., 1966, 55, 67—85.
- Janati, A., Berge, J. B., Dalmasso, A., Onillon, J.* Activité comparée des alloestérases du locus b de *Meloidogyne*: action de la température // Rev. Nematol., 1982, 5, 301—307.
- Kämpfe, L.* Vergleichende Untersuchungen zur Autoökologie von *Heterodera rostochiensis* Wollenweber und *Heterodera schachtii* Schmidt sowie einiger anderer Nematodenarten abweichender Lebensstätten // Parasitologische Schriftenreihe, 1962, 14, 205.
- Trudgill, D. L.* Survival of different stages of *Heterodera rostochiensis* at high temperature // Nematologica, 1970, 16, N 1, 94—98.
- Wallace, H. R.* The Biology of Plant Parasitic Nematodes. London, 1963.

Институт зоологии и ботаники
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
3/1 1988

Anu RIISPERE

PEREMEESTAIME TEMPERATUURIREŽIIMI MÕJU KARTULI KIDUSSI ARENGULE

Kartuli kiduussiga (*Globodera rostochiensis*, patotüüp Ro1) nakatatud kartulitaimi (sordid 'Sulev' — sustseptiilne, 'Spekula' — patotüüp Ro1 suhtes resistentne) kasvatati liivkultuuris järgmiste temperatuuride juures (keskmine ööpäevane temperatuur liivas): 23—25 °C, 12—15,5 °C, 10,3—12,7 °C. Kartuli kiduussi arenguks ja paljunemiseks osutus optimaalseks temperatuur 23—25 °C, peremeestaime kasvatamisel madalama temperatuuri juures vastsete areng aeglustus ning emasisendite moodustumine pidurdus. Peale otsese toime mõjutab keskkonna temperatuur nematoodide arengut peremeestaime füsioloogilise seisundi kaudu. Temperatuuri langedes suurenes resistentsete taimede nakatuvus ning adultsesse staadiumi jõudnud isaste arv juurtes. Seejuures aga ei kaotanud sort 'Spekula' oma rassispetsiifilist resistentust patotüüp Ro1 suhtes, s. t. ei moodustunud emasiseid.

THE INFLUENCE OF TEMPERATURE REGIME OF THE HOST ON THE DEVELOPMENT OF POTATO CYST NEMATODE

The potato plants (cv. 'Sulev' — susceptible, cv. 'Spekula' — resistant) infected with the larvae *Globodera rostochiensis* pathotyp Ro1 were grown in sand cultures at temperatures 23—25°, 12—15.5° and 10.3—12.7°C (diurnal means in sand). The highest reproductive rate of nematodes was recorded at 23—25°C, at lower temperatures the rate of development of juveniles became retarded and the formation of females was inhibited. In addition to the direct effect of temperature upon the development of nematodes, the latter is also influenced by the physiological state of the host plant. The increased invasion of larvae into roots of resistant plants is observed at 12—15.5° and 10.3—12.7°C, but still the development of juveniles was inhibited in the stage JIV and only males were formed. It is suggested that the race-specific resistance of cv. 'Spekula' is not affected by temperature regime.