

Ану-Лийс РИЙСПЕРЕ

ЗАВИСИМОСТЬ ПАТОГЕННОСТИ КЛЕВЕРНОЙ НЕМАТОДЫ ОТ УРОВНЯ МИНЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ РАСТЕНИЯ-ХОЗЯИНА

Клевер белый — один из важнейших компонентов травосмесей многолетних культурных пастбищ. В связи с этим представляет интерес выяснение факторов, от которых зависят его конкурентная способность, сохранность и урожай, а также распространение различных паразитических организмов — возбудителей болезней. Среди потенциальных возбудителей болезней клевера белого одним из опаснейших является корнеобитающий паразит — клеверная нематода *Heterodera trifolii*, широкая распространенность и патогенность которой отмечены многими авторами (Кириянова, Кралль, 1971; Деккер, 1972). Выяснено, что популяции клеверной нематоды могут достигать такой плотности, что вызывают полное исчезновение белого клевера из травостоев пастбищ и лугов. Потенциальную опасность со стороны клеверной нематоды показывают также результаты опытов, проведенных в Институте зоологии и ботаники АН ЭССР (Кралль, Рийспере, 1966; Riispere и др., 1971).

Борьба с этим возбудителем, как и с другими корнеобитающими паразитами, крайне сложна, и применение радикальных мер (химическая обработка почвы) в производственных условиях не осуществимо из-за огромных расходов, а также непрогнозируемых экологических последствий. Поэтому наиболее перспективными в борьбе с корнеобитающими паразитами на многолетних пастбищах следует считать мероприятия, связанные с возделыванием устойчивых сортов, или при отсутствии их — видоизменение системы агротехники. Однако при возделывании многолетних культур трудно использовать стандартные агротехнические приемы — противонематодные севообороты, успешно применяемые в борьбе с нематодными болезнями однолетних культур (например, с картофельной нематодой). Из всех агротехнических мероприятий внимание исследователей привлекает возможность повышения устойчивости растений соответствующей системой удобрения. Несмотря на то что большинство опытов в этом направлении до сих пор проведено без серьезного теоретического обоснования, их результаты показывают перспективность соответствующих поисков. Кроме того, в последние годы сделана обнадеживающая попытка создать общую теорию паразитоустойчивости растений (Рийспере, 1977, 1979), способную объяснить явление горизонтальной устойчивости с точки зрения влияния режима удобрения на отношения между хозяином и паразитом.

Целью наших опытов было выяснение влияния общего уровня корневого питания, а также уровня отдельных питательных элементов в нем на патогенность клеверной нематоды в отношении клевера белого. При этом были не только установлены интегративные показатели действия уровня корневого питания на отношения хозяин—паразит (урожай надземной массы отдельных укосов, вес корней и количество цист нематоды

в конце опыта), но и проведен химический анализ надземных частей растений, чтобы выяснить влияние нематоды на усвоение и накопление основных элементов питания.

Материал и методика

В качестве растения-хозяина в опытах использовали районированный в ЭССР селекционный сорт белого клевера 'Йыгева 4', который на основании соответствующих испытаний (Riispere и др., 1971) является высокопринимчивым к местной популяции клеверной нематоды, служившей инвазионным началом.

Опыты проводились в условиях вегетационного домика с использованием в основном метода песчаных культур (почва в качестве субстрата использовалась только в одном случае). Как для песчаных, так и для почвенных культур были заложены 5-литровые сосуды. Применялись две разные системы песчаных культур: 1) сосуды с протекающими растворами (подробное описание см. Рийспере, 1966), обеспечивающие ежедневное полное пропитывание субстрата свежим питательным раствором, хорошую аэрацию и возможность периодического обновления раствора, и 2) сосуды с закрытым дном, в которые питательная смесь была внесена при закладке опытов, и в дальнейшем проводилось только ежедневное орошение растений дистиллированной водой по весу (такая система применялась также в почвенных культурах).

В качестве питательного раствора использовали смесь Роббинса (Robbins, 1946), в которой азот представлен только в нитратной форме. Для регулирования уровня корневого питания применялись различные концентрации питательного раствора, а для повышения в отдельности уровня азотного, фосфорного, калийного и кальциевого питания к основному раствору (0,5-кратная смесь Роббинса) прибавляли соответственно NaNO_3 , NaH_2PO_4 , KCl и CaCl_2 в количествах, эквивалентных 2-кратной концентрации этих элементов в основном растворе.

Заражение нематодой осуществлялось непосредственно перед посевом клевера (100 цист на сосуд). Параллельно в качестве контроля во всех вариантах опытов закладывали сосуды с незараженным субстратом (повторность четырехкратная). Опыты продолжались три месяца, и в течение этого периода сняты три или четыре укоса.

Срезанные надземные части отдельных укосов высушивали при 70°C до постоянного веса и взвешивали. Учет корней произведен в конце опытов. Статистическая достоверность данных оценена по t -критерию Стьюдента. Количество цист в субстрате определяли флотационным методом.

Содержание азота, фосфора и калия в надземной массе клевера определяли из одной навески после мокрого озоления смесью серной и хлорной кислот по методу К. Е. Гинзбург и Г. М. Щегловой (1960), азот — колориметрически реактивом Несслера, фосфор — колориметрически по образованию молибденового синего по Труогу-Мейеру и калий — на пламенном фотометре. Кальций и магний определяли трилонометрически в одном и том же растворе в присутствии индикатора кислотного хромтемносинего после сухого озоления материала при 500° .

Результаты опытов

Влияние общего уровня минерального питания. Данные, полученные в опытах, показывают, что патогенное действие клеверной нематоды существенно зависит от уровня обеспеченности белого клевера пита-

Таблица 1

Влияние уровня минерального питания клевера белого 'Игтева 4' на патогенное действие клеверной нематоды (почвенные культуры)

Вариант опыта	Урожай	Сухой вес надземной массы на сосуд, г		% к контролю		Сухой вес корней на сосуд, г		% к контролю		Содержание питательных элементов в надземных частях (% от абсолютно-сухого веса)												Кол-во цист на 1 а субстрата в конце опыта													
		К	З	К	З	К	З	К	З	N			P			K			Ca				Mg												
										К	З	К	З	К	З	К	З	К	З	К	З		К	З	К	З	К	З							
Смесь почвы с кварцевым песком (1:2)	I	2,00	расте-	2,51	42	3,45	0,19	2,33	2,86	0,41	2,86	0,19	2,33	2,86	0,41	2,86	0,19	2,33	2,86	0,41	2,86	0,19	2,33	2,86	0,41										
	II	2,91	ния по-																							3,50	0,17	2,16	2,25	0,45	2,25	0,45			
	III	3,10	гибли																							3,80	0,14	1,26	2,24	0,36	2,24	0,36			
		8,01																																	
Почва без добавления питательных солей	I	4,02	1,42	35	42	4,51	5,55	3,20	2,34	0,49	3,00	0,23	3,20	2,34	0,49	3,00	0,23	3,20	2,34	0,49	3,00	0,23	3,20	2,34	0,49										
	II	5,19	4,50	87																						3,46	2,82	0,29	3,04	2,87	2,43	2,22	0,38	2,22	0,38
	III	7,49	3,37	45																						3,18	2,81	0,20	2,12	2,14	1,96	2,25	0,32	2,25	0,32
		16,70 9,29 56																																	
Смесь почвы с кварцевым песком и добавленным питательных солей	I	11,52	13,08	113	88	3,54	3,42	3,13	2,99	0,47	2,28	0,22	3,13	2,99	0,47	2,28	0,22	3,13	2,99	0,47	2,28	0,22	3,13	2,99	0,47										
	II	4,55	5,30	116																						3,90	3,79	0,27	2,32	2,12	2,34	2,15	0,33	2,15	0,33
	III	4,55	2,49	55																						4,02	3,35	0,15	1,82	1,91	2,19	2,23	0,44	2,23	0,44
		20,62 20,87 101																																	

Примечание. К — контроль (незараженные), З — зараженные растения.

Таблица 2

Влияние уровня минерального питания клевера белого 'Игвега 4' на патогенное действие клеверной нематоды (песчаные культуры в сосудах с проточными растворами)

Вариант опыта	Уровни	Сухой вес надземной массы на сосуд, г		% к контролю	Сухой вес корней на сосуд, г		% к контролю	Содержание питательных элементов в надземных частях (% от абсолютно-сухого веса)												Кол-во лист на 1 л субстрата в конце опыта
		К	З		К	З		N		P		K		Ca		Mg				
								К	З	К	З	К	З	К	З	К	З	К	З	
0,25-кратный раствор Роббинса	I	3,91	2,47	63*	2,62	2,42	0,27	0,27	1,75	1,65	1,98	2,32	0,36	0,42	6220					
	II	3,17	3,64	115	2,71	2,92	0,22	0,27	1,44	1,53	2,01	1,83	0,38	0,34						
	III	2,67	2,57	96	3,33	3,35	0,26	0,23	2,19	2,03	1,79	1,57	0,39	0,46						
	IV	4,18	2,37	57*	3,08	2,37	0,20	0,26	1,59	1,92	1,48	1,79	0,28	0,46						
		13,93	11,05	79																
0,5-кратный раствор Роббинса	I	8,57	8,46	99	3,76	3,93	0,45	0,42	3,37	3,67	1,88	1,98	0,38	0,41	5440					
	II	7,61	7,05	93	3,08	3,13	0,44	0,41	2,47	2,58	1,89	1,95	0,49	0,47						
	III	5,39	4,25	79	3,62	3,62	0,43	0,43	2,91	2,91	1,87	1,87	0,55	0,55						
	IV	10,21	5,72	56**	3,44	2,74	0,40	0,48	2,20	2,14	1,52	1,65	0,42	0,60						
		31,78	25,48	80																
2-кратный раствор Роббинса	I	10,89	9,93	91	4,32	4,63	0,50	0,48	4,62	4,58	1,82	1,92	0,49	0,46	4560					
	II	11,31	12,02	108	4,55	4,50	0,48	0,49	4,65	4,71	1,76	1,64	0,58	0,47						
	III	9,98	8,81	88	4,80	4,97	0,50	0,50	4,79	4,74	1,52	1,63	0,48	0,51						
	IV	11,31	11,05	98	3,80	3,30	0,53	0,49	3,51	3,56	1,34	1,32	0,45	0,56						
		43,49	41,81	96																

Примечание. К — контроль (незараженные), З — зараженные растения.

* — различие достоверно при 5%-ном уровне значимости.

** — различие достоверно при 1%-ном уровне значимости.

тельными элементами. Прежде всего это относится к общему уровню питания растений. Особенно выразительна эта зависимость в почвенных культурах (табл. 1), где в наименее обеспеченном варианте (бедная суглинистая полевая почва, «разведенная» кварцевым песком) паразит вызывал полную гибель растений уже в начале опыта, вскоре после появления всходов. В параллельном варианте, где почва оставалась без добавления питательных солей, отмечалось значительное снижение урожая сухой массы, который по сумме трех укосов составлял только 56% от контроля. При внесении в смешанную с песком почву полной питательной смеси патогенное действие нематод при первых двух укосах почти не проявилось. Только в конце опыта, по-видимому, под влиянием нового поколения личинок на удобренной «разбавленной» почве отмечалось сильное снижение урожая. Однако суммарный урожай надземной массы трех укосов этого варианта даже превышал урожай, полученный за этот период в контрольном варианте на неудобренной почве. Зависимость от обеспеченности питательными элементами обнаруживается и в поражении корней, которое, судя по сухому весу в конце опыта, было в два раза сильнее на неудобренной почве.

В принципе аналогичный опыт проводился в песчаных культурах (в сосудах с проточными растворами), где сравнивалось действие трех разных концентраций сбалансированного питательного раствора (табл. 2). Данные показывают, что заметное торможение образования листовидной массы в начале опыта имело место только при наименьшей (0,25-кратной) концентрации питательного раствора. При втором укосе отрицательный эффект нематоды не был обнаружен ни в одном варианте (по всей вероятности, в результате отсутствия синхронности между образованием новых корней и размножением паразита). Зависимость степени пораженности растений от уровня корневого питания выявилась в конце опыта, когда сухой вес урожая IV укоса при двух низких уровнях питания (растворы 0,25- и 0,5-кратной концентрации) составлял только 57 и 56% по сравнению с контролем, а при высокой обеспеченности (раствор 2-кратной концентрации) практически равнялся контролю.

Дополнительный материал о влиянии общего уровня корневого питания на патогенное действие клеверной нематоды получен также в вариантах опытов с 0,5- и 1,5-кратными растворами питательных веществ, основной целью которых было изучение действия повышенных доз отдельных элементов (табл. 3 и 4). Патогенное действие паразита и зависимость его от уровня корневого питания здесь также обнаруживается во второй половине вегетационного периода (III и IV укосы). Определенный интерес представляет сравнение данных, полученных в двух разных системах песчаных культур. Обнаруживается, что в сосудах с закрытым дном, где условия корневого питания (аэрация, водный режим) были менее благоприятными и рост растений менее интенсивным, чем в сосудах с проточной системой, нематода имела более сильное отрицательное влияние на растения клевера.

Влияние отдельных питательных элементов. Результаты опытов с повышенными дозами азота, фосфора, калия и кальция представлены в табл. 3 и 4. Из них следует, что в контрольных (незараженных) сосудах добавление отдельных элементов к сбалансированному раствору 0,5-кратной концентрации вызывало более интенсивное образование надземной массы (по сумме четырех укосов) только в вариантах с проточной системой. В сосудах с закрытым дном положительный эффект обеспеченности отдельными элементами не обнаруживался. Что же касается влияния повышенных доз отдельных элементов на патогенность нематоды, то можно сказать, что только азот приостановил снижение уровня над-

земной массы. При этом положительное влияние высокого уровня азота не уступало эффекту, полученному в результате увеличения общей концентрации питательного раствора. Другие испытанные элементы (фосфор, калий и кальций) такого действия на поражение растений клеверной нематодой не оказывали.

При анализе влияния отдельных питательных элементов на патогенное действие клеверной нематоды представляют интерес результаты определения их концентрации в надземной массе растений (табл. 1—4). Поражение корней клеверной нематодой не вызывает специфических и однозначных сдвигов в концентрации фосфора, калия, кальция и магния в надземных частях. Изменение содержания этих элементов в пораженных растениях довольно четко соответствует ходу изменения их содержания в незараженных (контрольных) растениях. Обнаруживаемые небольшие отклонения от этой закономерности объяснимы отсутствием синхронности в развитии зараженных и незараженных растений, вызванным различиями в общем повреждающем действии паразита и волновым характером вторичного заражения. Вышеотмеченный параллелизм в изменении содержания элементов у зараженных и контрольных растений наблюдается не только в сезонной динамике концентрации элементов, но и в ответе на повышение уровня питания в субстрате. При рассмотрении действия нематоды на содержание питательных элементов в растениях обнаруживается ясная тенденция к снижению концентрации азота в зараженных нематодами растениях, особенно в последних укосах. В результате этого дефицит азота может стать лимитирующим фактором в зараженных растениях. На это указывает и повышенное содержание всех зольных элементов в надземной части растений при сильно пониженном содержании азота, которое обнаруживалось в IV укосе при низких (0,25- и 0,5-кратных) концентрациях питательного раствора (табл. 2).

В заключение следует обратить внимание на сведения о количестве цист в конце опытов, отражающие влияние корневого питания на размножение клеверной нематоды (табл. 2—4). Обнаруживается закономерность, по которой повышение общего уровня питания растения-хозяина вызывает снижение интенсивности размножения паразита. Из отдельных элементов таким нематостатическим действием обладал только азот. В то же время повышенные содержания калия и кальция сильно способствовали размножению клеверной нематоды.

Обсуждение

Немалочисленные данные, приведенные в литературе о влиянии условий корневого питания на взаимоотношения растений с фитопаразитическими нематодами и другими паразитическими организмами, не всегда однозначны (Kirkpatrick и др., 1964; Krauss, 1969; Крылов, Барановская, 1971; Шубина, 1972). Выясняется, что применение высоких норм удобрений может оказать на численность и вредоносность нематод как подавляющее, так и стимулирующее действие. Такую неоднозначность результатов следует считать закономерным отражением широкого варьирования комбинаций хозяев, патогенов и условий среды. Это соответствует концепции «треугольника болезни» Я. Ван дер Планка (1972), которая основывается на эквивалентности действия изменений хозяина, патогена и среды. По этой же причине возможность экстраполяции результатов конкретных опытов (особенно тех, которые проведены в полевых условиях и в почвенных культурах) крайне ограничена. Их цен-

ность, однако, состоит в том, что почти все они отражают лабильность «треугольника» нематодных болезней и тем самым доказывают перспективность дальнейших поисков в этом направлении. Важная роль в таких исследованиях должна принадлежать опытам с инертными субстратами, где условия корневого питания растений определяются точно, что позволяет получить хорошо интерпретируемые сведения о норме реакции нематод на изменение уровня питания их хозяев. Хорошо отвечает требованиям соответствующих нематологических опытов использованная нами система песчаных культур с проточными сосудами.

Результаты настоящих опытов показывают, что характер взаимоотношений между клеверной нематодой и ее хозяином (клевером белым) существенно зависит от условий корневого питания — вредоносное действие паразита уменьшается при повышении общего уровня питания растений или при улучшении обеспеченности азотом. Эта закономерность, по всей вероятности, является следствием совместного действия двух факторов, один из которых — более низкая степень размножения клеверной нематоды в обеспеченных и интенсивно метаболизирующих растениях, т. е. в условиях, к которым она еще полностью не приспособлена. Наши данные показывают, что наилучшие условия для размножения клеверной нематоды создаются в растениях, находящихся в состоянии физиологического стресса (Рийспере, Рийспере, 1979). Другим фактором, способствующим уменьшению потери урожая надземной массы клевера белого, является повышение толерантности самих растений. В условиях более обильного снабжения питательными веществами, особенно азотом, корни способны при одной и той же поглощающей поверхности лучше обеспечивать биосинтетические процессы в надземных частях, в результате чего (в порядке положительной обратной связи) улучшаются снабжение ассимиляции и регенерационная способность корней.

Отмеченное в опытах значительное увеличение количества нематод при повышении содержания калия и кальция в среде может быть связано с влиянием этих катионов на физико-химические свойства коллоидов в инвазированных клетках, которые вызывают изменения, способствующие питанию этих биотрофных паразитов.

Обнаруженное в наших опытах снижение концентрации азота в зараженных растениях, по всей вероятности, вызвано не равным распределением питательных веществ между корневой системой и листостебельной частью. Поврежденная корневая система не способна удовлетворять потребности ассимиляционного аппарата (процессы в котором подчиняются определенной инерции), и возникает дефицит в азоте как в наиболее интенсивно употребляемом элементе в биосинтезе, что вызывает снижение его относительного содержания в листьях. В пользу этого объяснения говорит стереотипность визуальных симптомов нематодных болезней — пожелтение листьев, что в листовой диагностике является признаком азотного стресса.

Таким образом, наши опыты подтверждают предположение о том, что клеверная нематода — опасный паразит клевера белого, который при низком агрофоне может причинять значительный вред урожаю зеленой массы. Однако вредоносность ее можно уменьшить путем своевременного и достаточного удобрения травостоев (особенно азотными удобрениями), чтобы подавить жизнедеятельность паразита, повысить толерантность растений и снизить потери урожая.

ЛИТЕРАТУРА

- Ван дер Планк Я. Устойчивость растений к болезням. М., 1972.
- Гинзбург К. Е., Шеглова Г. М. Определение азота, фосфора и калия в растительном материале из одной навески. — Почвоведение, 1960, № 5, с. 100—105.
- Деккер Х. Нематоды растений и борьба с ними. М., 1972.
- Кириянова Е. С., Кралль Э. Л. Паразитические нематоды растений и меры борьбы с ними, т. II. Л., 1971.
- Кралль Э., Рийспере У. К изучению взаимоотношений в системе паразит—хозяин при гетеродерозе бобовых. — Изв. АН ЭССР. Сер. биол., 1966, т. 15, № 1, с. 83—89.
- Крылов П. С., Барановская И. А. Роль агроэкологических факторов в регулировании численности и ограничении вредоносности фитонематод. — В кн.: Итоги науки. Зоология (Нематоды растений). М., 1971, с. 78—91.
- Рийспере А. О минеральном питании сосны обыкновенной (*Pinus silvestris* L.) на маломощных перегнойно-карбонатных (альварных) почвах. I. Влияние концентрации кальция, магния и бикарбоната в среде на питание семян в песчаных культурах. — Изв. АН ЭССР. Сер. Биол., 1966, т. 15, № 4, с. 530—549.
- Рийспере А. Ю., Рийспере У. Р. Результаты опытов по изучению влияния физиологического стресса растений-хозяев на развитие картофельной и клеверной нематод. — В кн.: Пути дальнейшего совершенствования защиты растений в Белоруссии и республиках Прибалтики. (Тезисы докладов научно-производственной конференции). Часть II. Минск, 1979, с. 34—35.
- Рийспере У. Р. Некоторые теоретико-методологические проблемы фитопаразитологии. — Паразитология, 1977, т. 11, вып. 3, с. 193—201.
- Рийспере У. Р. Проблемная ситуация в фитопаразитологии. — В кн.: Принципы и методы изучения взаимоотношений между паразитическими нематодами и растениями. Тарту, 1979, с. 3—8.
- Шубина Л. В. К проблеме влияния минеральных удобрений на фитонематоды. — В кн.: Нематоды растений. Воронеж, 1972, с. 16—28.
- Kirkpatrick, J. D., Van Gundy, S. D., Mai, W. F. Interrelationships of plant nutrition, growth, and parasitic nematodes. — In: Plant analysis and fertilizer problems, IV. Washington, 1964, p. 189—225.
- Krauss, A. Einfluß der Ernährung der Pflanzen mit Mineralstoffen auf den Befall mit parasitären Krankheiten und Schädlingen. — Z. Pflanzenernähr. Bodenk., 1969, Bd. 124, H. 2, S. 129—147.
- Riispere, U., Riispere, A., Jaagus, M. Ristikute kiduussi-resistentsusest. — Sots. Põllumajandus, 1971, N 12, lk. 545—547.
- Robbins, W. R. Growing plants in sand cultures for experimental work. — Soil Sci., 1946, v. 62, N 1, p. 3—22.

Институт зоологии и ботаники
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
7/V 1979

Anu-Liis RIISPERE

**RISTIKUNEMATOODI (*Heterodera trifolii*) PATOGEENSUSE
SÕLTUVUS PEREMEESTAIME MINERAALSE TOITUMISE TASEMEST**

Artiklis on käsitletud vegetatsioonikatseid (liiv- ja muldkultuur), milles nakatud valge ristiku (sort 'Jõgeva 4', väga susteptiilne) mineraalse toitumise taset reguleeriti toitelahuse kontsentratsiooni ja koostise muutmise teel. Selgus, et nematoodi patogeensus (saagi langus) oleneb taimede mineraalse toitumise tasemest. Kui viimast tõsta, väheneb oluliselt nii parasiidi paljunemine kui ka patogeenne toime taimedele. Kõigi testitud toiteelementide hulgast (N, P, K, Ca) suurendab taimede vastupidavust nematoodikahjustustele lämmastik. Valge ristiku põldresistentsuse suurendamiseks ristikunematoodi suhtes on parasiidi esinemise korral oluline rohumaade varajane ja küllaldane väetamine, eriti lämmastikväetistega.

Anu-Liis RIISPERE

THE DEPENDENCE OF PATHOGENICITY OF CLOVER CYST NEMATODE
(*Heterodera trifolii*) ON THE LEVEL OF THE MINERAL NUTRITION
OF THE HOST PLANT

The study was carried out in sand and soil cultures with white clover (variety 'Jõgeva 4', highly susceptible), in which the supply of nutrient elements was regulated by modifying the concentration of nutrient solution or of its single components. The results of experiments indicate that the degree of pathogenicity of the nematode (decrease in yield) depends on the level of mineral nutrition of the host plant. Under conditions of a high supply with all essential elements, white clover exhibits considerable tolerance in relation to *H. trifolii*, even with high density of the parasite. Among single elements, an increased supply of nitrogen inhibited the reproduction of the nematode and raised the tolerance of the host plant. It may prove possible to increase the field resistance of white clover to clover cyst nematode by improving nutrient conditions in infected grasslands. A high supply of nutrient, especially nitrogen, at the beginning of vegetation will be essential.