

УДК 632.937.12

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ОТВЕТНЫХ РЕАКЦИЙ РАСТЕНИЙ НА ФИТОФАГОВ В СИСТЕМАХ РАСТЕНИЯ – ФИТОПАРАЗИТИЧЕСКИЕ НЕМАТОДЫ

Н.Е. Агансонова

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург

Представлены методические решения, совокупность методов, приемов, конкретный выбор критериев и последовательные этапы изучения ответных химических реакций растений огурца, томата, картофеля, индуцированных фитопаразитическими корневыми нематодами – южной галловой *Meloidogyne incognita* Ch. и золотистой картофельной *Globodera rostochiensis* W., фитопатогенами, обработкой индукторами устойчивости растений к фитогельминтам или их комплексным воздействием, и оценки влияния на западного цветочного трипса *Frankliniella occidentalis* P. и колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* Say, для разработки новых методов защиты растений, связанных с индуцированной устойчивостью растений к фитофагам. При индуцировании фитопаразитическими нематодами, методами оценки проявления ответных реакций растений по контактно-вкусовой ориентации вредителей и влиянию на потомство впервые установлено увеличение степени аттрактивности растений для фитофагов и численности их дочернего поколения. Результаты оценки контактно-вкусовой реакции вредителей показали особенности поведения фитофагов при инвазировании растений фитогельминтами и обработке индукторами устойчивости, на основе веществ, повышающих устойчивость растений к фитопаразитам. Индукторы устойчивости к нематодам, стимулируя рост, развитие растений и снижая численность фитогельминтов, по-разному влияют на интенсивность выделения аттрактивных для вредителей соединений. Отмечены изменения характера индуцируемых ответных реакций растений в зависимости от количества и сочетания взаимодействующих индукторов (фитогельминты, фитопатогены, индукторы устойчивости к нематодам). Предлагается оценивать влияние индукторов устойчивости растений к фитопаразитическим нематодам, разрешенных к применению в РФ и новых, проходящих испытания, на сопутствующие виды фитофагов при использовании этих препаратов в системах интегрированной защиты культур.

Ключевые слова: индуцирование ответных реакций растений, галловые и цистообразующие нематоды, индукторы устойчивости к фитогельминтам, фитопатогены, фитофаги.

Нематоды принадлежат к числу наиболее патогенных организмов, связанных с растениями, являются облигатными паразитами, питающимися живыми клетками, и способны вызывать эпифитотии. В результате исследований экологических, этологических, физиолого-биохимических и молекулярно-генетических взаимодействий в биологических системах, включающих растение – продуцент и консументы различных порядков и таксономической принадлежности, были научно обоснованы представления об основных иммуногенетических механизмах растений

[Вилкова, Конарев, 2010]. Результатом защитной реакции на повреждение, наносимые членистоногими-фитофагами, является повышение иммунного статуса растения (прямой индуцированной защиты) за счет снижения его дальнейшей привлекательности для фитофага, а также снижение выживаемости, плодовитости, динамики накопления массы тела и других жизненно важных показателей [Вилкова, Шапиро, 1981]. Повреждения фитофагов вызывают многообразные защитные реакции растений, появление в растении новых или резкое усиление синтеза уже имеющихся защитных

веществ [Буров, 2004]. Максимальная мобилизация природных механизмов составляет основу стратегии интегрированного управления фитосанитарным состоянием агроценозов [Павлюшин, 2013].

Разработка новых методов защиты растений, связанных с индуцированной устойчивостью растений к фитофагам, в основе которых находятся исследования по взаимоотношениям фитопаразитических нематод с растениями, вредителями и фитопатогенами, при обработке индукторами устойчивости (ИУ) к фитогельминтам, экологически безопасными препаратами на основе соединений с биорегуляторной активностью, особенно актуальна. Биологические особенности разных видов нематод, поражаемых ими растений, методы оценки химических ответных реакций растений (ОРР) в лабораторных, вегетационных, полевых (и тепличных) экспериментах, включающие регламентацию

требований к обрабатываемым растениям (единообразия видового, сортового и возрастного), способам индуцирования различными индукторами, используемому инокулюму (с различным уровнем заражения), а также к нормам расхода индукторов устойчивости к нематодам (ИУКН), способам и оптимальным срокам обработки, оценке эффективности обуславливают специфику исследований.

В примерах методических решений, выполненных и обобщенных автором, показаны совокупность методов, приемов, конкретный выбор критериев и последовательные этапы оценки особенностей влияния ОРР на фитофагов при индуцировании галловыми или цистообразующими нематодами, а также комплексом взаимодействующих индукторов (фитогельминты, ИУКН, фитопатогены) с учетом различных взаимосвязей.

Методика исследований

Стандартизация условий оценки ответных реакций растений

Для индуцирования ОРР фитопаразитическими нематодами растение в конкретную для каждого вида фазу развития инвазируют личинками 2 возраста (инвазионными личинками) с различным уровнем исходной численности. В качестве инокулюма используют чистую культуру нематод одного вида. Инвазионные личинки нематод проверяют на жизнеспособность, просматривая под стереоскопическим микроскопом. Для стандартизации нематодного инокулюма определяют количество живых личинок в 1 мл воды, доводя объем суспензии до 1 л и подсчитывая их количество в 5 выборках по 1 мл.

ИУКН в концентрациях, подобранных экспериментально (предварительно определяют эффективные концентрации и продолжительность периода сохранения их активности для нематод), используют путем внесения в почву (пролив) при посадке культуры, предпосевной обработки семян (клубней) или методом опрыскивания.

Оценку влияния индуцированных ОРР с учетом взаимодействующих индукторов на фитофагов проводят при искусственном заражении нематодами в опытах садковых лабораторных (в стаканчиках, 200 мл), вегетационных (в вазонах, 500 мл) с безнематодной (автоклавированной при 1.5 атм.) почвенной смесью (почва, торф и песок в соотношении 1:1:1), полевых (в вазонах в почве), при естественной инвазионной нагрузке в полевых (или тепличных) деляночных – микрополевых (размер делянок до 1 м²), мелкоделяночных (до 10 м²), полевых (от 20 до 100 м²) и производственных (более 1000 м²) экспериментах. Количество повторностей – 4, в производственных опытах – 2 (при наличии 15–30 учетных делянок размером 1 м² на каждой).

В полевых опытах определяют исходную зараженность почвы или растений нематодами для последующей оценки эффективности, а также состав почвы, содержание гумуса, полевую влагоемкость, рН и др. для уточнения расхода ИУКН. Исходную зараженность почвы в опытах без интактных растений и потенциальную урожайность растений при заражении нематодами оценивают по неустойчивой к нематодам предшествующей культуре (по количеству галлов и цист на корнях). Выравнивания уровень заражения, на делянки подсыпают зараженную почву. Для обнаружения личинок нематод в почве, их выделения, определения инвазионной нагрузки используют общепринятые методы [Кириянова и др., 1971], в частности, метод биотеста (вы-

сокоэффективный при разных инвазионных нагрузках) – в вазоны насыпают почву с делянок, высаживают растения и анализируют корни на наличие яйцевых мешков и цист.

Индекс эффективности (ИЭ) ИУКН оценивают по формулам Аббота [Abbot, 1925]: $ИЭ_1 = (A - B/A) \times 100$, где $ИЭ_1$ – индекс эффективности ИУКН, %, A – количество нематод, % зараженных растений, балл поражения на контрольной делянке, B – количество нематод, % зараженных растений, балл поражения на опытной делянке. Если известно исходное заражение растений на делянках нематодами, применяют формулу: $ИЭ_2 = \left\{ (1 - \frac{B_{\text{после}}}{A_{\text{до}}} / \frac{B_{\text{до}}}{A_{\text{после}}}) \right\} \times 100$, где $ИЭ_2$ – индекс эффективности ИУКН к нематодам, %, $B_{\text{до}}$ – количество (%) зараженных растений (нематод) на опытной делянке до применения ИУ, $B_{\text{после}}$ – количество (%) зараженных растений (нематод) на опытной делянке после обработки ИУКН, $A_{\text{до}}$ – количество (%) зараженных растений (нематод) на контрольной делянке до применения ИУ, $A_{\text{после}}$ – количество (%) зараженных растений (нематод) на контрольной делянке после обработки ИУКН.

В период максимальной индукции выделения специальных летучих веществ, установленный экспериментально, оценивают контактно-вкусовую ориентацию фитофагов на растения (индуцированные и интактные) и численность потомства вредителей по показателям: индекс ориентации $ИО = (A - B/A) \times 100$, где $ИО$ – % изменения численности фитофага на индуцированное растение с поправкой на интактное растение, A – % особей фитофага на интактное растение, B – % особей фитофага на индуцированное растение, а также индекс плодовитости самок $ИПС = (A - B/A) \times 100$, $ИПС$ – % изменения численности особей на 1 самку фитофага на индуцированное растение с поправкой на интактное растение, A – % личинок на 1 самку на интактное растение, B – % личинок на 1 самку на индуцированное растение.

Урожай при индуцировании растений ИУКН оценивают в сравнении с интактными растениями, определяют индекс устойчивости (ИУ) растений – отношение урожая индуцированных растений к таковому интактных (ИУ) должно быть близким к 1 [Гуськова и др., 1983]. При обработке данных результаты дисперсионного анализа представляют в виде буквенных индексов, следующих за средними значениями. Значения с разными буквенными индексами достоверно различаются при $p \leq 0.05$.

Индукцирование ответных реакций в системах растения – галловые нематоды

Индукцирование ОРР галловыми нематодами, инокуляцией фитопатогенами, обработкой ИУКН или их комплексным воздействием проводят в наиболее чувствительную к воздействию индукторов фазу развития растения (установленную экспериментально) при искусственном заражении фитогельминтами в опытах садковых лабораторных, вегетационных, полевых, а также при естественной инвазионной нагрузке в полевых (или тепличных) деляночных – микро-полевых, мелкоделяночных, полевых и производственных экспериментах. В лабораторных опытах инвазирование растений водной суспензией инвазионных личинок нематод в стаканчиках (200 мл), вазонах (500 мл) с безнематодной почвенной смесью (почва, торф и песок в соотношении 1:1:1) проводят, используя различный уровень инвазионной нагрузки, подобранный экспериментально. Инвазионных личинок нематод получают, помещая яйцевые мешки с корней зараженных растений в воду в чашки Петри на сутки.

В полевых или тепличных экспериментах при искусственном заражении нематодами в вазоны, находящиеся в почве, верхние края которых на 10–20 см выше уровня почвы, засыпают мелкий гравий, песок (до 1/4 объема) и безнематодную почву. Инокуляцию каждого растения проводят водной суспензией личинок нематод. При естественной инвазионной нагрузке предварительно определяют наличие нематод методом биотеста – в вазоны насыпают почву с делянок и высаживают рассаду огурца в фазу 2–3 настоящего листа (или томата – 3–4). Через 30–45 суток корни растений анализируют на наличие галлов и яйцевых мешков. До посева (посадки) культур определяют степень заражения делянок по выемкам почвы (100 см³), которые обрабатывают методом прямой фильтрации.

Оценивают биохимические показатели растений, определяя содержание сахаров, хлорофиллов *a* и *b*, активность ферментов, рН и др.

Поражаемость растений мелойдогинами оценивают в лабораторных и вегетационных опытах на 45 сутки по степени покрытия корней растений галлами и числу последних, количеству галлов и оотек на 1 г корня, а также по образованию нематодами ржаво-коричневых яйцевых мешков (оотек) по лабораторной международной шкале Тейлора–Сессера [Taylor et al., 1978]. Число галлов и оотек по шкале Тейлора–Сессера: балл 1 – 1–2 шт., балл 2 – 3–10, балл 3 – 11–30, балл 4 – до 100, балл 5 – более 100. В полевых экспериментах на естественном инвазионном фоне поражаемость растений оценивают через 45 суток после посева (посадки) культур или при уборке по степени покрытия корней галлами по шкале Смита [Метлицкий и др., 1991]. Процент покрытия поверхности корней галлами – по шкале Смита: 0 баллов – 0, 1 балл – 1–25, 2 балла – 26–50, 3 балла – 51–75, 4 балла – 76–100. Степень зараженности корней галловыми нематодами определяют по индексу галлообразования (ИГ) [Гуськова и др., 1983]. Балл заражения растений определяют по следующей шкале: балл 1 – отсутствие галлов, балл 2 – единичные галлы, балл 3 – галлы на 50% корней, балл 4 – галлы на 75% корней, балл 5 – галлы на всей корневой системе. На основании оценки отдельных растений на делянке вычисляют ИГ по формуле: $ИГ = 1n_1 + 2n_2 + 3n_3 + 4n_4 + 5n_5 / N$, где *N* – количество растений на делянке, *n*₁, *n*₂, ..., *n*₅ – количество растений, оцененных баллами 1, 2, ..., 5. Зараженность растений считается слабой при ИГ ме-

нее 3, сильной – при 4 и 5. Эффективность ИУКН оценивают по формуле Аббота.

Оценивают размер самок (в мм) фитогельминтов и количество яиц в оотеке (в шт.). Развитие галловых нематод в корнях растений – по проникновению в корни (в сутки), количеству самок с оотекой (в %) и развитию личинок из яиц (в %). Учитывают массу надземных частей и корней (в г), высоту (в см), а также продуктивность растений (в г/вторность, кг/м², кг/растение).

Пример 1. Система “растение томата *Lycopersicon esculentum* – южная галловая нематода *Meloidogyne incognita* Ch. – нарцисс-Н (ИУКН) – фитопатоген *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* – западный цветочный трипс *Frankliniella occidentalis* P.”

Варианты системы: растение-продуцент – томат; один из индукторов – южная галловая нематода, нарцисс-Н, фитопатоген или комплексное воздействие 2-х индукторов – нематоды и фитопатогена (или нематоды и нарцисса-Н), 3-х индукторов – нематоды, нарцисса-Н и фитопатогена; тест-объект – западный цветочный трипс.

Проявление индуцированных химических ОРР с учетом взаимосвязей взаимодействующих индукторов оценивают по **показателям:** ориентация имаго трипса на растения и плодовитость самок, количество галлов, оотек, яиц в оотеке, галлов и оотек на 1 г корня, размер самок нематоды, проникновение в корни, развитие личинок из яиц, пораженность фитопатогеном, нематодой, эффективность ИУКН, высота растений, массу надземной части, корней, количество листьев.

В садковых лабораторных (в стаканчиках 200 мл) индуцируя ОРР нематодой и фитопатогеном, растения в фазу 3–4 настоящего листа инвазируют фитогельминтом (150–250 инвазионных личинок на растение) и инокулируют водной суспензией фитопатогена (титр 1x10⁶ КОЕ/мл) 1–2 настоящие листья (3–4 листья изолируют от заражения). Для оценки локального действия тестируют 1–2 настоящие листья, системного – 3–4. В стаканчики (вазоны) с растениями, заполненные безнематодной почвенной смесью вводят водную суспензию инвазионных личинок на глубину 3 см. Водной суспензией фитопатогена опрыскивают поверхность листьев и через 5–7 суток оценивают пораженность растений по 5-балльной шкале: балл 0 – повреждений листа нет; балл 1, 2, 3, 4 – повреждено до 20, 40, 60, 80% и более поверхности листа; балл 5 – 100% поверхности листа. При индуцировании ОРР ИУКН растения обрабатывают нарциссом-Н (0.25% водный раствор) после инвазирования нематодой.

На 5 сутки после инвазии нематодой оценивают проявление ОРР по контактно-вкусовой ориентации трипса на индуцированное и интактное растение и численность потомства фитофага. В стеклянные цилиндры (18x25 см) помещают попарно по одному растущему в стаканчике индуцированному и интактному растению, и выпускают по 30 имаго. Ориентацию имаго на индуцированные и интактные растения в садке оценивают через 1, 2 суток после выпуска по ИО (от общего количества прореагировавших особей). При изучении комплексного воздействия индукторов в качестве сравнения оценивают ориентацию вредителя на растения, индуцированные каждым индуктором в отдельности.

Влияние ОРР на численность потомства трипса оценивают по ИПС. При оценке плодовитости по 1 самке вредителя на сутки помещают для откладки яиц в закрытые садки с одним индуцированным (или интактным) растением, самку удаляют и через 9–12 суток учитывают количество отродившихся личинок 2 возраста дочернего поколения на 1 самку на индуцированном (или интактном) растении.

Определяют развитие фитогельминта на корнях растений – проникновение в корни, количество самок с оотекой и развитие личинок из яиц. На 45 сутки оценивают поражаемость растений нематодой по шкале Тейлора-Сессера; массу надземной части, корней, количество листьев, высоту растений; размер самок нематоды и количество яиц в оотеке.

Пример 2. Система “растение огурца *Cucumis sativus* – южная галловая нематода – хитозар-Н (или продукты метаболизма симбиотических бактерий энтопатогенных нематод (ПМСБЭН)) – фитопатоген *Erysiphe cichoracearum* Dc. F. – западный цветочный трипс”

Варианты системы: растение – огурец; один из индукторов – южная галловая нематода, хитозар-Н, ПМСБЭН, фитопатоген или комплексное воздействие 2-х индукторов – нематоды и хитозара-Н (или ПМСБЭН) или нематоды и фитопатогена, 3-х индукторов – нематоды, хитозара-Н (или ПМСБЭН) и фитопатогена; тест-объект – трипс.

Проявление индуцированных ОРР с учетом взаимодействия индукторов оценивают по *показателям*: ориентация имаго трипса на растения и плодовитость самок, количество галлов, оотек, галлов и оотек на 1 г корня, яиц в оотеке, сухого вещества, сахаров, аскорбиновой кислоты,

хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов, размер самок нематоды, проникновение в корни, развитие личинок из яиц, пораженность фитопатогеном, нематодой, эффективность ИУКН, активность пероксидазы, высота растений, массу надземных частей и корней, pH, урожай.

Для индуцирования ОРР проводят заражение растений (в вазонах 500 мл) в фазу 2–3, 3–4 настоящего листа водной суспензией инвазионных личинок нематоды и обработку ИУКН (обработка семян и пролив почвы водным раствором хитозара-Н в 0.25% концентрации или обработка семян, пролив почвы, опрыскивание вегетирующих растений водной суспензией ПМСБЭН с титром 10^7 клеток/мл, 500 личинок/растение или 10 яйцевых мешков/растение); инокулируют листья растений водной суспензией возбудителя мучнистой росы в фазу 2–3, 3–4 настоящего листа и в период плодоношения.

На 5 сутки на индуцированных и интактных растениях оценивают ИО и ИПС трипса; биохимические показатели в плодах огурца: активность фермента пероксидазы (в отн. ед./г сырой массы), содержание сухого вещества (в %), сахаров (в %), аскорбиновой кислоты (в мг%), а также в листьях – хлорофилла *a* и хлорофилла *b*, каротиноидов (в мг/100 г) [Починков, 1976], в корнях – сахаров (в %) [Ермаков и др., 1987, Чупахина, 2000, Минеев, 2001] пораженность растений фитопатогеном, нематодой. Определяют развитие фитогельминта в корнях растений – проникновение в корни, количество самок с оотекой, развитие личинок из яиц, размер самок и количество яиц в оотеке, а также высоту, массу надземных частей и корней, урожай.

Индуцирование ответных реакций в системах растения – цистообразующие нематоды

Оценку влияния индуцированных ОРР на фитофагов проводят при искусственном заражении нематодами в опытах садковых вегетационных, полевых, а также при естественной инвазионной нагрузке в деляночных – микрополевых, мелкоделяночных, полевых и производственных экспериментах после инвазии нематодами, инокуляции фитопатогенами и обработки ИУКН, а также при комплексном воздействии индукторов.

При искусственном заражении в садковых вегетационных и полевых опытах (в вазоны, верхние края которых на 10–20 см выше уровня почвы, засыпают мелкий гравий, песок до 1/5 объема и безнематодную почву) заражение почвы суспензией инвазионных личинок нематоды (количество личинок подбирают экспериментально) проводят после посадки растений. Инвазионных личинок нематод получают, помещая цисты в каплю воды на предметное стекло, покрывая покровным, раздавливая легким нажимом на покровное стекло или стимулируя корневыми выделениями картофеля.

Оценивая влияние ОРР на фитофагов в полевых экспериментах при естественной инвазионной нагрузке, предварительно определяют зараженность почвы нематодами на делянках. С каждой делянки, проходя челноком, отбирают через 10–15 см исходные пробы почвы. Объем почвенной пробы – 1.5 л. Количество проб, собранных из пахотного слоя почвы (глубина 25 см от поверхности) – 20 проб/делянку. Исходные почвенные пробы просушивают 14 дней, перемешивают и выделяют для анализа средние пробы объемом 400 мл. Зараженность почвы выражают количеством живых личинок, содержащихся в цистах, выделенных из

100 см³ почвы. Выделение цист из почвы проводят методом флотации – навеску (100 см³) высыпают в сосуд (1 л), перемешивают, отстаивают 20 минут, верхний слой почвы с цистами сливают в воронку с фильтровальной бумагой. Цисты помещают в каплю воды, раздавливают, подсчитывают количество личинок и определяют зараженность почвы на делянках.

Эффективность применения ИУКН в концентрациях, подобранных экспериментально, в отсутствие интактных делянок определяют по исходной зараженности почвы. Учет численности фитогельминтов проводят до посадки и после уборки культуры. Устанавливают зависимость послеуборочной плотности популяции нематоды от допосевной. Пораженность растений фитопатогенами оценивают по 5-балльной шкале, распространенности и развитию болезней. При оценке биохимических показателей определяют активность ферментов, содержание сахаров, крахмала, хлорофиллов, количество белка, pH и др.

Зараженность растений нематодами и эффективность обработок ИУКН оценивают через 45 суток после инвазирования по количеству зараженных растений или после уборки культуры по зараженности почвы (живых личинок/100 см³ почвы). После выделения цист устанавливают их жизнеспособность и степень заражения почвы по шкале: отсутствие заражения – в пробе не обнаружено цист, слабая – 1–2 цисты (менее 1 тыс. личинок), средняя – от 3 до 25 цист (до 5 тыс. личинок), сильная – более 25 цист (свыше 5 тыс. личинок) [Комарова, 1986]. Определяют размер самок нематод (в мм) и количество яиц на 1 самку (в шт.). В вегетационных опытах – массу вновь образовавшихся

клубней в опыте в процентах от контроля – массы клубней растений, неинвазированных нематодой (в г). В полевых экспериментах при оценке влияния индуцированных ОРР на фитофагов при комплексном воздействии нематод, фитопатогенов (возбудителей болезней) и обработок ИУКН устанавливают пораженность нематодами, урожай (в кг/м² или кг/растение), распространенность и развитие болезней. Рассчитывают распространенность болезней (P₁) – процент пораженных растений и процент развития болезней (P₂) по формулам: $P_1 = A \times 100 / N$, где А – количество пораженных растений, N – общее число учтенных растений; $P_2 = 100 \sum (A \times B) / N \times K$, где $\sum (A \times B)$ – сумма произведений количества пораженных растений (А) на соответствующий им балл поражения (В), N – общее число растений, К – высший балл поражения шкалы. При оценке роста и развития растений учитывают массу надземных частей и корней (в г), высоту растений (в см).

Пример 3. Система «картофель *Solanum tuberosum* L. – золотистая картофельная нематода *Globodera rostochiensis* W. – хитозан, элиситор, индуцирующая устойчивость к золотистой картофельной нематоды (или ПМСБЭН) – фитопатоген *Phytophthora infestans* – колорадский жук *Leptinotarsa decemlineata* Say»

Варианты системы: растение-продуцент – картофель; один из индукторов – золотистая картофельная нематода, хитозан, ПМСБЭН или воздействие 2-х индукторов – нематоды и хитозана (или ПМСБЭН), 3-х индукторов – нематоды, хитозана (или ПМСБЭН), фитопатогена; тест-объект – колорадский жук.

Проявление индуцированных ОРР с учетом взаимодействующих индукторов оценивают по **показателям:** ориентация имаго жука на растения, количество кладок яиц и яиц на 1 самку жука, самок нематоды и их размер, пораженность нематодой и фитофторозом (распространенность, развитие болезни), эффективность ИУКН, активность пероксидазы, высота растений, масса надземных частей, корней, площадь съеденных жуком листьев, урожай.

Влияние индуцированных ОРР на жука оценивают в садковых вегетационных и полевых экспериментах. Индуцирование ОРР обработкой хитозаном (или ПМСБЭН) при искусственном заражении нематодой проводят в садковых вегетационных опытах. Клубни неустойчивых и устойчивых к фитогельминту сортов картофеля высаживают по одному в вазоны объемом 500 мл. За основу принимают шкалу, разделяющую растения по устойчивости к картофельным цистообразующим нематодам на две группы: устойчивые и поражаемые. К группе устойчивых относят растения, на корнях которых цисты отсутствуют или отмечено не более 5 пустых цист без яиц и личинок. На 5 сутки после посадки клубней проводят индуцирование ОРР

картофеля заражением суспензий инвазионных личинок (1 тыс. личинок/растение). Проводят обработку клубней перед посадкой (водорастворимый хитозан, 100 мкг/мл, с молекулярной массой 5 кДа и степенью ацетилирования 15%) или обработку клубней и 3-кратное опрыскивание вегетирующих растений в фазу бутонизации, цветения и на 11 сутки после цветения (ПМСБЭН, водная суспензия, титр 10⁷ клеток/мл, 50 мл/л).

Оценивают влияние индуцированных ОРР на ориентацию жука на растения и численность потомства. ИО жука на индуцированные и интактные растения оценивают на 5–9 сутки после индуцирования нематодой в садках, закрытых бязью, в которые помещают попарно по одному индуцированному и интактному растению и выпускают по 20 имаго (перезимовавшего поколения). В эксперименте используют жуков, однородных по показателям: популяция, поколение, масса тела. Учет распределения имаго на растениях проводят через 1, 3, 5, 24 ч после выпуска. На индуцированных и интактных растениях оценивают процент особей жука (от общего количества прореагировавших особей); степень поврежденности растений, выраженную в процентах съеденной площади листьев или средний балл поврежденности растений. Площадь съеденных листьев картофеля определяют по шкале визуальной оценки степени поврежденности растений в баллах (балл 0 – отсутствие видимых повреждений листьев, 1 – потеря не более 10% общей площади листьев, 2 – 11–25%, 3 – 26–50%, 4 – 51–80%, 5 – потеря более 80%) или измеряют до посадки жуков в садки и после окончания опыта.

При оценке ИПС (перезимовавшего поколения) в садок с индуцированным растением подсаживают по 5 пар жуков (самок и самцов). Учеты числа кладок (с удалением из садков) и подсчет яиц в каждой кладке проводят в течение 10 дней, вычисляя среднее число отложенных яиц на 1 самку в сутки [Павлюшин и др., 2005]. Результаты сравнивают с плодовитостью фитофага на интактном растении. Активность пероксидазы в листьях растений оценивают спектрофотометрическим методом [Чупахина, 2000] через сутки после опрыскивания вегетирующих растений (в фазу бутонизации, цветения и на 11 сутки после цветения) ИУКН.

Зараженность картофеля нематодой оценивают через 45 суток или после уборки культуры; определяют количество самок нематоды и их размер; рост, развитие и продуктивность картофеля. В полевых экспериментах при оценке влияния индуцированных комплексным воздействием нематоды, возбудителя фитофтороза и обработки ИУКН ОРР на жука устанавливают зараженность нематодой, эффективность ИУКН, распространенность и развитие фитофтороза, а также урожай. Учитывают высоту, массу надземных частей и корней растений.

Заключение

При апробации методик автором впервые изучено воздействие ОРР на фитофагов при индуцировании фитопаразитическими нематодами, а также комплексом с различными сочетаниями, взаимодействующих индукторов (фитогельминты, ИУКН, фитопатогены). Так, отмечено, что новые препаративные формы на основе хитозана не токсичны для южной галловой нематоды в почве и в корнях растений, но уменьшают количество галлов на корнях [Гуськова и др., 2003]. Повышение устойчивости растений с помощью хитозана при заражении нематодой может быть одним из при-

емов защиты растений в комплексе мероприятий по борьбе с галловыми нематодами [Агансонова, 2005]. Установлено, что одной из ОРР, инвазированных южной галловой нематодой, является индукция выделения метаболитов с аттрактивной активностью для имаго западного цветочного трипса [Буров и др., 2005, 2006, Vigov et al., 2005; Агансонова и др., 2008]. Интенсивная индукция летучих метаболитов проявлялась через 72–120 ч после инвазии. Выявлено, что при выпуске трипса на растения, индуцированные повреждением нематодой, увеличилась плодовитость самок фи-

тофага и количество личинок дочернего поколения. При комплексном воздействии фитогельминта и фитопатогена *P. syringae* повышалась степень аттрактивности растений для трипса с увеличением численности потомства вредителя. Иммуномодуляторы, индуцирующие устойчивость растений к южной галловой нематоды – хитозар-Н, БАК «Экогель» и нарцисс-Н, стимулируя рост и развитие растений, снижали численность фитогельминта, повышая устойчивость томата к нематоды, однако по-разному влияли на интенсивность выделения аттрактивных (для трипса) веществ. Обработка хитозаром-Н и БАК «Экогелем» снижала аттрактивность растений для трипса и уменьшала количество особей дочернего поколения фитофага, то есть эти иммуномодуляторы повышали устойчивость растений к вредителю. Нарцисс-Н, напротив, повышал интенсивность выделения аттрактивных веществ с увеличением численности потомства трипса, снижая устойчивость растений к фитофагу. Повреждения золотистой картофельной нематодой, индуцируя ОРР к фитогельминту, увеличивали привлекательность растений для имаго колорадского жука [Агансонова, 2012]. ПМСБЭН, снижая численность южной галловой нематоды, влияли на поведение и демографические показатели трипса, что проявлялось в изменении ориентации вредителя на растения – уменьшении степени привлекательности на инвазированные фитогельминтом рас-

Работа проводилась по грантам РФФИ: «Семиохимические взаимодействия системы «растение-фитофаг-энтомофаг» в сообществах защищенного грунта (№02-04-50028)» (в 2004 г.); «Взаимодействие фитофагов и фитопатогенов при формировании у растений реакций индуцированной устойчивости (№05-04-48095)» (в 2005-2007 гг.) и по отраслевой программе Россельхозакадемии в 2007–2014 гг.

Plant Protection News, 2015, 2(84), p. 41 – 48

ASSESSMENT OF INFLUENCE OF PLANT RESPONSES ON PHYTOPHAGES IN SYSTEMS “PLANTS – PHYTOPARASITIC NEMATODES”

N.E. Agansonova

All-Russian Institute of Plant Protection, St Petersburg

Methodical decisions, set of methods, choice of criteria and consecutive stages of studying chemical plant responses of cucumber, tomato and potato induced by phytoparasitic root nematodes (*Meloidogyne incognita* Ch., *Globodera rostochiensis* W.) are proposed, as well as by phytopathogens, inducers of plant resistance to phytohelminths, or by their complex influence. Estimates on the influence of *Frankliniella occidentalis* P. and *Leptinotarsa decemlineata* Say are given. The development of new methods of plant protection connected with the induced plant resistance to phytophages are discussed. At induction by phytoparasitic nematodes, the increase of plant attraction degree for phytophages and the increase of the pest number are found. Features of phytophage behavior are studied. Inducers of plant resistance to nematodes are growth stimulators reducing the number of phytohelminths, and influencing plant attraction for pests. Quantity and combination of the interacting inducers (phytohelminths, phytopathogens, inducers of resistance to nematodes) change the nature of the induced responses. Estimation of new and allowed for use inducers of plant resistance to phytoparasitic nematodes is offered for passing tests on their influence on phytophage species.

Keywords: plant response induction; gall nematode; cyst root nematode; phytopathogen; resistance inductor; phytohelminth; herbivore.

Библиографический список (References)

- Агансонова Н.Е. Активность продуктов метаболизма *Xenorhabdus* – симбиотических бактерий энтомопатогенных нематод (Rhabditida, Steinernematidae) против возбудителей болезней растений / Н.Е. Агансонова, Л. Г. Данилов, О.Г. Селицкая // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем: матер. междунар. конф. Краснодар. 2008. Вып. 5. С.187–188.
- Агансонова Н.Е. Активность продуктов метаболизма *Xenorhabdus* – симбиотических бактерий энтомопатогенных нематод (Rhabditida, Steinernematidae) и нематодно-бактериальных комплексов против возбудителей болезней растений / Н.Е. Агансонова, Л. Г. Данилов, Н.П. Шипилова // Проблемы защиты растений в условиях современного сельскохозяйственного производства. СПб.: Всерос. НИИ защиты растений. 2009. С. 3–5.
- Агансонова Н.Е. Влияние продуктов метаболизма симбиотических бактерий энтомопатогенных нематод на золотистую картофельную нематоду / Н.Е. Агансонова, Л. Г. Данилов, Ш.А. Магомедов // Защита и карантин растений. 2013. №4. С. 44–45.
- Агансонова Н.Е. Перспективы использования новых препаратов биологического происхождения в комплексных системах защиты растений / Н.Е. Агансонова // Биологические средства защиты растений, технология их изготовления и применения. СПб.: Всерос. НИИ защиты растений, 2005. С. 338–353.
- Агансонова Н.Е. Реакция западного цветочного трипса *Frankliniella occidentalis* P. на растения, индуцированные повреждением фитопаразитическими корневыми нематодами или обработанные иммуномодулятором Нарциссом / Н.Е. Агансонова Н.Е., О.Г. Селицкая О.Г., В.Н.

- Буров // Биологическая защита растений – основа стабилизации агроэкосистем: матер. междунар. конф. Краснодар. 2008. Вып. 5. С. 320–322.
- Агансонова Н.Е. Реакция западного цветочного трипса *Frankliniella occidentalis* P. на растения, индуцированные повреждением фитопаразитическими корневыми нематодами, фитопатогеном или обработанные иммуномодуляторами / Н.Е. Агансонова, О.Г. Селицкая, В.Н. Буров // Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам: матер. второй Всерос. конф. СПб.: 2008. С. 248–249.
- Агансонова Н.Е. Реакция фитофагов на растения, индуцированные фитопаразитическими корневыми нематодами, фитопатогеном или обработанные иммуномодуляторами / Н.Е. Агансонова // Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам: матер. третьей Всерос. и междунар. конф. СПб.: 2012. С. 171–173.
- Буров В.Н. Защитные реакции растений, индуцируемые фитофагами / В.Н. Буров // Защита и карантин растений. 2004. №1. С. 20–21.
- Буров В.Н. Ольфакторные реакции западного цветочного трипса *Frankliniella occidentalis* Perg. (Thysanoptera: Thripidae) на поврежденные томаты, вызванные галловыми нематодами и патогенами / В.Н. Буров, Н.Е. Агансонова, О.Г. Селицкая // Индуцированный иммунитет сельскохозяйственных культур – важное направление в защите растений: матер. Всерос. науч.-практич. конф. Большие Вяземы. 2006. С. 40–41.
- Буров В.Н. Реакция западного цветочного трипса *Frankliniella occidentalis* Perg. (Thysanoptera: Thripidae) на повреждения томатов, вызванные галловыми нематодами / В.Н. Буров и др. // Фитосанитарное оздоровление экосистем: матер. второго Всерос. съезда по защите растений. Санкт-Петербург. 2005. С. 259–261.
- Вилкова Н.А. Современные проблемы иммунитета растений к вредителям / Н.А. Вилкова, Ал. В. Конарев // Вестник защиты растений. №3. 2010. С. 3–15.
- Вилкова Н.А. Место индуцированного иммунитета в системе иммунологических барьеров растений, определяющих устойчивость к вредителям / Н.А. Вилкова, И.Д. Шапиро // Биологические основы и пути практического использования индуцированного иммунитета к болезням и вредителям: тр. ВИЗР. 1981. С. 21–28.
- Гуськова Л.А. Испытание новых препаративных форм хитозана против галловой нематоды *Meloidogyne incognita* / Л.А. Гуськова, Н.Е. Агансонова, С.А. Тарлаковский // Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана: матер. седьмой междунар. конф. РосХит. СПб-Репино. 2003. С. 76–79.
- Гуськова Л.А. Методические указания по проведению государственных испытаний нематод / Л.А. Гуськова, О.З. Метлицкий, Л.Г. Данилов // М.: 1983. 9 с.
- Ермаков А.И. Методы биохимического исследования растений / А.И. Ермаков и др. Л.: Агропромиздат, 1987. С. 41–44.
- Кирьянова Е.С. Паразитические нематоды растений и меры борьбы с ними / Е.С. Кирьянова, Э.Л. Кралль. Л.: Наука, 1969. Т.1, 447 с; 1971. Т.2, 521 с.
- Комарова Е. Б. Рекомендации по борьбе с картофельной нематодой / Е. Б. Комарова, А. Э. Калнозол // Рига. 1986. 19 с.
- Метлицкий О.З. Методические указания по оценке сельскохозяйственных культур (на примере томата) на устойчивость к галловым нематодам / О.З. Метлицкий и др. // М.: 1991. С. 14–15.
- Минеев В.Г. Практикум по агрохимии: учеб. пособие / В.Г. Минеев и др. – под ред. В.Г. Минеева. – 2-е изд., перераб. и доп. М.: МГУ, 2001. 689 с.
- Павлюшин В.А. Методические рекомендации по индикации и мониторингу процессов адаптации колорадского жука к генетически модифицированным сортам картофеля / В.А. Павлюшин и др. СПб. 2005. 28 с.
- Павлюшин В.А. Фитосанитарная дестабилизация агроэкосистем / В.А. Павлюшин и др. // СПб.: НППЛ: Родные просторы. 2013. 184 с.
- Починок Х.Н. Методы биохимического анализа растений / Х.Н. Починок // Киев: Наукова думка. 1976. 334 с.
- Чулахина Г.Н. Физиологические и биохимические методы анализа растений: практикум / Г.Н. Чулахина. Калининград: Изд-во КГУ, 2000. 59 с.
- Abbot W.S. The method of computing the effectiveness of an insecticide / W.S. Abbot // J. Econ. Entomol. 1925. 18. P. 265–267.
- Burov V.N. Infestation of cucumbers with southern gall nematode *Meloidogyne incognita* Chit. (Tylenchida, Meloidogynidae) increases their attractivity to western flower thrips *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) / V.N. Burov, N.E. Agansonova, O.G. Selitskaya // Management aspects of crop protection and sustainable agriculture: Research, development and information systems: abstracts crop protection conf. – St. Petersburg-Pushkin. 2005. P. 17–18.
- Taylor A.L. Biology, identification and control of root-knot nematodes / A.L. Taylor, J.N. Sasser // Raleigh. USA. North Carolina State University Graphics. 1978. 111 p.

Translation of Russian References

- Agansonova N.E. Prospects of use of new preparations of a biological origin in complex systems of protection of plants. In: Biologicheskie sredstva zashchity rastenii, tekhnologiya ikh izgotovleniya i primeneniya. St Petersburg: Vseros. NII zashchity rastenii, 2005. P. 338–353.
- Agansonova N.E. Reaction of phytophages on plants induced by phytoparasitic root nematode damage, phytopathogen or treated by immunomodulators. In: Sovremennye problemy immuniteta rastenii k vrednym organizmam: mater. tret'ei Vseros. i mezhdun. konf. St Petersburg: 2012. P. 171–173.
- Agansonova N.E., Danilov L.G., Magomedov Sh.A. Influence of metabolism products of symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes on golden potato nematode. Zashchita i karantin rastenii. 2013. №4. P. 44–45.
- Agansonova N.E., Danilov L.G., Selitskaya O.G. Activity of Xenorhabdus metabolism products – symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes (Rhabditida, Steinernematidae) against causative agents of plant diseases. In: Biologicheskaya zashchita rastenii – osnova stabilizatsii agroekosistem: mater. mezhdun. konf. Krasnodar. 2008. N 5. P.187–188.
- Agansonova N.E., Danilov L.G., Shipilova N.P. Activity of Xenorhabdus metabolism products – symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes (Rhabditida, Steinernematidae) and nematode-bacterial complexes against causative agents of plant diseases. In: Problemy zashchity rastenii v usloviyakh sovremennogo sel'skokhozyaistvennogo proizvodstva. St Petersburg: Vseros. NII zashchity rastenii. 2009. P. 3–5.
- Agansonova N.E., Selitskaya O.G., Burov V.N. Reaction of *Frankliniella occidentalis* P. on plants induced by phytoparasitic root nematode damage or treated by immunomodulator Narcissus. In: Biologicheskaya zashchita rastenii – osnova stabilizatsii agroekosistem: mater. mezhdun. konf. Krasnodar. 2008. N 5. P. 320–322.
- Agansonova N.E., Selitskaya O.G., Burov V.N. Reaction of *Frankliniella occidentalis* P. on plants induced by phytoparasitic root nematode damage, phytopathogen or treated by immunomodulators. In: Sovremennye problemy immuniteta rastenii k vrednym organizmam: mater. vtoroi Vseros. konf. St Petersburg. 2008. P. 248–249.
- Burov V.N. et al. Reaction of *Frankliniella occidentalis* Perg. (Thysanoptera: Thripidae) on tomato damages caused by gall nematodes Reaktsiya zapadnogo tsvetochnogo tripsa *Frankliniella occidentalis* Perg. (Thysanoptera: Thripidae). In: Fitosanitarnoe ozdorovlenie ekosistem: mater. vtorogo Vseros. s'ezda po zashchite rastenii. St Petersburg. 2005. P. 259–261.
- Burov V.N. Protective reactions of plants induced by phytophages. Zashchita i karantin rastenii. 2004. №1. P. 20–21.
- Burov V.N., Agansonova N.E., Selitskaya O.G. Olfactory reactions of *Frankliniella occidentalis* Perg. (Thysanoptera: Thripidae) on tomato damages caused by gall nematodes and pathogens. In: Indutsirovannyi immunitet sel'skokhozyaistvennykh kul'tur – vazhnoe napravlenie v zashchite rastenii: mater. Vseros. nauch.-praktich. konf. Bol'shie Vyazemy. 2006. P.40–41.
- Chupakhina G.N. Physiological and biochemical methods of analysis of plants: practicum. Kaliningrad: Izd-vo KGU, 2000. 59 p.
- Ermakov A.I. et al. Methods of plant biochemical research. Leningrad: Agropromizdat, 1987. P. 41–44.
- Guskova L.A., Agansonova N.E., Tarlavskii S.A. Testing new preparation forms of Chitozan against gall nematode *Meloidogyne incognita*. In: Sovremennye perspektivy v issledovanii khitina i khitozana: mater. sed'moi mezhdun. konf. RosKhit. St Petersburg-Repino. 2003. P. 76–79.
- Guskova L.A., Metlitskii O.Z., Danilov L.G. Methodical instructions on carrying out state testing nematodes. Moscow: 1983. 9 p.
- Kiryaynova E.S., E.L. Krall'. Parasitic nematodes of plants and measure of their control. Leningrad: Nauka, 1969. V.1, 447 p; 1971. V.2., 521 p.
- Komarova E.B., Kalnozols A.E. Recommendations on potato nematode control. Riga. 1986. 19 p.
- Metlitskii O.Z. et al. Methodical instructions on crop evaluation (on the example of tomato) on resistance to gall nematodes. Moscow: 1991. P. 14–15.
- Mineev V.G. (Ed.). Practicum on agrochemistry 2nd ed. Moscow: MGU, 2001. 689 p.
- Pavlyushin V.A. et al. Methodical recommendations on indication and monitoring of adaptation of the Colorado beetle to genetically modified potatoes. St Petersburg. 2005. 28 p.
- Pavlyushin V.A. et al. Phytosanitary destabilization of agroecosystems. St Petersburg: NPPL: Rodnye prostory. 2013. 184 p.
- Pochinok Kh.N. Methods of biochemical analysis of plants. Kiev: Naukova dumka. 1976. 334 p.

Vilkova N.A., Konarev A.I. V. Modern problems of plant immunity to pests.
In: *Sovremennye problemy immuniteta rastenii k vreditelyam*. Vestnik
zashchity rastenii. N3. 2010. P. 3–15.

Vilkova N.A., Shapiro I.D. Role of induced immunity in system

of immunological barriers of plants defining resistance to pests.
In: *Biologicheskie osnovy i puti prakticheskogo ispol'zovaniya
indutsirovannogo immuniteta k bolezniam i vreditelyam*: tr. VIZR. St
Petersburg. 1981. P. 21–28.

Сведения об авторе

Всероссийский НИИ защиты растений, шоссе Подбельского, 3, 196608
Санкт-Петербург-Пушкин, Российская Федерация
Агансонова Наталья Евгеньевна. Старший научный сотрудник,
кандидат биологических наук, e-mail: aghansonova@mail.ru

Information about the author

All-Russian Institute of Plant Protection, Podbelskogo shosse, 3, 196608,
St Petersburg-Pushkin, Russian Federation
Agansonova Natalia Evgenievna. Senior Researcher, PhD in Biology
e-mail: aghansonova@mail.ru