

ВЛИЯНИЕ НА ТЕЧНИЯ КОРЕНОВ БИОСТИМУЛАТОР FERTIAC TYL® GZ ВЪРХУ ПОВРЕДИТЕ ПО ДОМАТИ, ПРИЧИНЕНИ ОТ ГАЛОВИ НЕМАТОДИ (*Meloidogyne* spp.)

ЛИЛЯНА МАРКОВА*, ЕЛЕНА ЦОЛОВА**, БОГДАН КОКУДЕВ***

*Лесотехнически университет, София

**Институт по земеделие, Кюстендил

***Тимак Агро България ЕАД, София

Influence of the Liquid Root Biostimulator Fertiactyl® GZ on Damaged Tomato Plants Caused by Root-Knot Nematodes (*Meloidogyne* spp.)

L. Markova*, E. Tsoleva**, B. Kokudev***

*University of Forestry, Sofia, Bulgaria

**Institute of Agriculture, Kyustendil, Bulgaria

***Timak Agro Bulgaria, Sofia

Abstract

The requirements for the production of fresh pesticide-free and organically cultivated vegetables increase the interest of the farmers to the problems of the resistance and the tolerance of crops and addressing the impact of biotic stress factors.

The influence of Fertiactyl® GZ on the host-parasite interactions was studied on the system tomato – *Meloidogyne* spp. under glass. The tomato variety Rally was used. The treatment with Fertiactyl® GZ positively affects the growth of the infected plants. The values of the examined parameters have been elevated compared with untreated variants; significant differences have been found in the fresh weight of the plants, which was 32.5% higher and in the fresh weight of the root system – by 9.1%. Although an increase in the density of nematodes has been reported, the growth and the development of the infected plants has been improved, which gives grounds to assume that this is due to the effect of the induced tolerance.

Key words: *Meloidogyne*, Fertiactyl® GZ, tomatoes

Галовите нематоди от род *Meloidogyne* Goldi 1877 са неприятели с икономическо значение за голям брой култури, отглеждани в оранжерии и на открито (Sasser, Carter, 1985; Самалиев, Стоянов; 2008). Традиционно контролът с тях се извежда предимно с химически средства. Използването на нематодциди предлага само временно решение и те нямат трайно въздействие върху нематодните популации. Освен това от екологични и токсикологични съображения броят на разрешените нематодциди драстично намалява и честата им употреба води до поява на резистентни популации. Тенденцията в световен мащаб за чиста от вредни вещества земеделска продукция и околна среда свежда до минимално използването на пестициди (Atkins, 2005).

Изискванията за производство на пресни зеленчуци, свободни от остатъчни вредни вещества, повишават интересът на производителите към проблемите, свързани с устойчивостта и толерантността на отглежданите култури и преодоляване въздействието на факторите на биотичен стрес. В литературата има сведения (Salem, Midan, 1980; Guimaraes, 2008; Assunção et al., 2010), които посочват, че третирането на растенията с растежните регулатори, органични и минерални торове може да доведе до индуцирана устойчивост към галовите нематоди. В практиката все по-широко навлиза употребата на растежни стимулатори. Кореновият

биостимулатор Fertiactyl®GZ е комплекс от органични молекули, съставени от активирани хумусни и фулвиеви киселини, зеатин и глицин-бетаин. Зеатинът е фитохормон от групата на цитокинините, които имат стимулиращо действие върху растежа и развитието на растенията.

Провеждането на изследвания за установяване механизма на индуциране на устойчивост предполага значителна трудоемкост, затова първоначално е необходимо да се изясни влиянието им върху растежа и развитието на заразени растения и върху репродуктивната способност на нематодите.

Целта на настоящето изследване беше да се проучи влиянието на течния коренов биостимулатор Fertiactyl®GZ върху развитието на растения домати, повредени от галови нематоди от род *Meloidogyne*, отглеждани при оранжерийни условия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Резултатите в представената разработка са получени въз основа на проведени оранжерийни опити в района на гр. Кресна през периода 2010 – 2012 г., и лабораторни изследвания.

Подготовка на почвения субстрат и отглеждане на растенията

Използван е почвен субстрат, състоящ се от торф и кварцов пясък в съотношение 3: 1, стерилизиран чрез соларизация. Изследването е про-

ведено с домати сорт Рали, като за отглеждането на разсад семената преди сеитба са повърхностно обеззаразени и засети в блюда с автоклавиран почвен субстрат. След 3 седмици растенията са прехвърлени в пластмасови саксии със стерилизиран почвен субстрат.

Намножаване на нематодите и получаване на материал за извършване на зараза

Намножаване на нематодите. Галовите нематоди първоначално са изолирани от почвата и от кореновата система на домати от оранжерии в гр. Кресна. За определяне на видовете са използвани възрастни женски, от които са изготвени временни микроскопски препарати на перинеума. Установени бяха следните видове: *Meloidogyne arenaria* (Neal, 1889) и *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White, 1919), като преобладаващ бе видът *M. arenaria*, 67%. В настоящата работа ще бъде употребявано сборното понятие галови нематоди от род *Meloidogyne*. Нематодите са размножени и поддържани върху чувствителния сорт домати "Harzglut" при оранжерийни условия (температура от около 23 – 28 °C) в саксии. За растенията са полагани обичайни грижи.

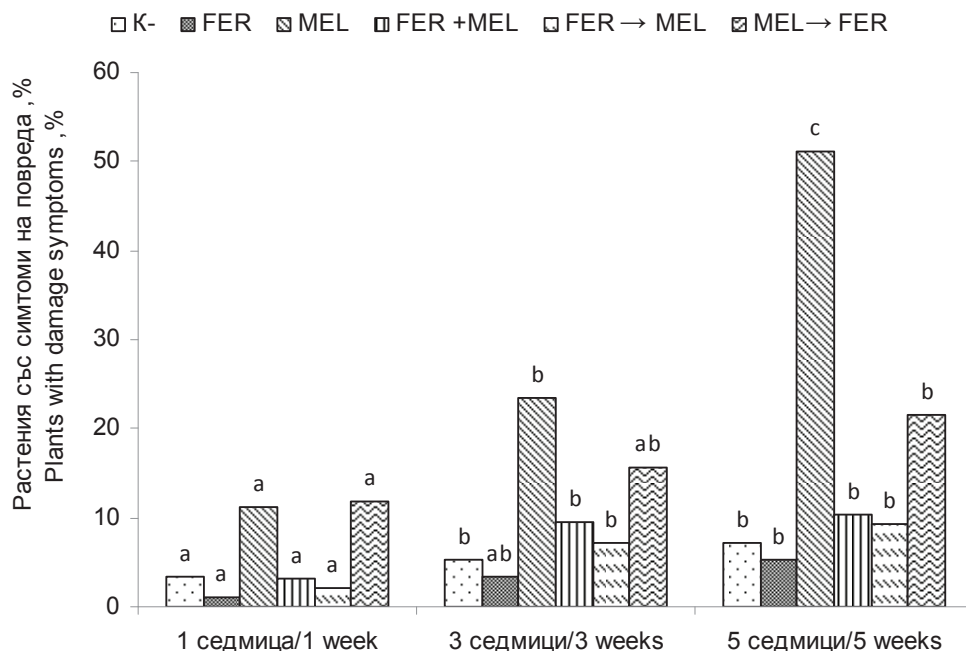
Подготовка на материал от нематоди за заразяване. След измиване и нарязване на корените на силно нападнати домати те бяха поставени в 0,1% разтвор на натриев хипохлорит NaClO (Hussey, Barker, 1973) и с помощта на миксер в продължение на 2 min – мацерирани. Яйцата и ларвите са отделяни от растителните остатъци с помощта на серия от сита с размери 100, 50 и 20 µm. Ларвите са събирани от последното сито и използвани за

заразяване. Заразяването е извършвано с 10 ml от получената суспензия (или с 5000 L₂/растение, респ. саксия), като във всяка саксия е направена вдлъбнатина до основата на растението.

Отчитане и оценка на нападението от *Meloidogyne* spp.

Наличие на ларви по кореновата система на растенията. За да се провери наличието на проникнали в кореновата система ларви, корените са измивани обилно под течаща вода и оцветявани в разтвор на кисел фуксин (Acid fuchsin) за 24 часа. Корените са промивани и след това са мацерирани. Получената суспензия е изследвана под стереомикроскоп за наличието на различни стадии от развитието на нематодите. Броят на ларвите (L₂) е определен с помощта на хемцитометър на Thoma под микроскоп.

Репродуктивна способност на нематодите. Нематодите са извлечени от почвата с помощта на фуниевиден метод, модифициран от Берман (Hooper et al.; 2005), фиг. 2, а от корените – чрез мацерация и промиване през серия от сита (Speijer, De Waele, 1997). Коренова система на всяко растение е използвана за определяне на размножителния потенциал на нематодите. Плътноста на нематодната популация в почвата и корените е определяна въз основа на броя живи ларви (L₂) на 100 g почва и 5 g корени (свежо тегло). Нападението е оценявано чрез индекс (Root galling index- RGI), който се основава на процента заразени корени, т. е. наличието или отсъствието на гали по кореновата система на растенията (Speijer, De Waele, 1997).



Фиг. 1. Относителен дял на растенията със симптоми на повреда след заразяване с *Meloidogyne* spp., респ. третиране с Fertiactyl®GZ самостоятелно или в комбинация; Тест на Tukey ($P \leq 0,05$)

Fig. 1. Percentage of plants with damage symptoms after infection with *Meloidogyne* spp. resp. treatment Fertiactyl®GZ alone or in combination, test Tukey ($P \leq 0.05$)

Таблица 1. Растеж на растенията домати сорт Рали след третиране с Fertiactyl®GZ, респ. заразяване с *Meloidogyne* spp.
Table 1. Growth of tomato plants after treatment with Fertiactyl®GZ resp. infection with *Meloidogyne* spp.

Варианти	n	Височина на растенията, cm	Свежа маса, g	
			растение	коренова система
Контрола (-)	10	41,3 a	38,9 a	10,8 a
<i>Meloidogyne</i> spp. (Контрола +)	10	42,2 a	30,7 ab	8,9 b
Fertiactyl®GZ (FER)	10	39,5 a	48,8 c	11,3 c
<i>Meloidogyne</i> spp. (MEL) + Fertiactyl®GZ (FER)	10	40,3 a	45,5 b	9,8 ab
Fertiactyl®GZ (FER) → <i>Meloidogyne</i> spp. (MEL) след една седмица	10	42,1 a	31,2 ab	9,5 ab
<i>Meloidogyne</i> spp. (MEL) → Fertiactyl®GZ (FER) след една седмица	10	40,9 a	31,4 b	9,2 b

n - брой на растения; средните стойности в една и съща колона, последвани от една и съща буква нямат статистически достоверни разлики; Тест на Tukey ($P \leq 0.05$)/number of plants; mean values in the same column followed by the same letter are not significantly different test; (Tukey at $P \leq 0.05$).

Таблица 2. Репродуктивна способност на галовите нематоди от род *Meloidogyne* при домати след третиране с Fertiactyl®GZ, респ. заразяване с *Meloidogyne* spp.
Table 2. Reproduction of the root-knot nematodes of the genus *Meloidogyne* in tomato after treatment with Fertiactyl®GZ with resp. infection *Meloidogyne* spp.

Варианти	n	Наличие на гали (RGI)	Ларви/100 g почва	Ларви/5 g корени	Ларви/коренова система
Контрола (-)	10				
<i>Meloidogyne</i> spp. – Контрола (+)	10	4,0 a	14 953 a	4890 a	8993 ab
Fertiactyl®GZ (FER)	10				
<i>Meloidogyne</i> spp. (MEL) + Fertiactyl®GZ (FER)	10	3,7 a	12 460 a	4501 a	20 995 b
Fertiactyl®GZ (FER) → <i>Meloidogyne</i> spp. (MEL) след една седмица	10	3,5 a	15 911 a	5160 a	11 866 ab
<i>Meloidogyne</i> spp. (MEL) → Fertiactyl®GZ (FER) след една седмица	10	3,8 a	13 484 a	4663 a	7562 a

n - брой на растения; средните стойности в една и съща колона, последвани от една и съща буква нямат статистически достоверни разлики; Тест на Tukey ($P \leq 0.05$)/number of plants; mean values in the same column followed by the same letter are not significantly different test; (Tukey at $P \leq 0.05$).

Експериментален дизайн

Контролните варианти са третирани с вода, а останалите, съответно с Fertiactyl®GZ. Опитите са заложили в три повторения при следните варианти: 1) Нетретирани и незаразени растения (Контрола -); 2) Растения, заразени с *Meloidogyne* spp. (Контрола +); 3) Растения, третирани с Fertiactyl®GZ (FER); 4) Растения, заразени с *Meloidogyne* spp. (MEL) и третирани с Fertiactyl®GZ (FER), едновременно; 5) Растения, третирани с Fertiactyl®GZ и след една седмица заразени с *Meloidogyne* spp. (MEL); 6) Растения, заразени с *Meloidogyne* spp. (MEL) и след една седмица третирани с Fertiactyl®GZ.

Доматените растения от всеки вариант след третиране, респ. заразяване с *Meloidogyne* spp. са отглеждани в саксии (по едно растение в саксия) и поставяни 6 седмици при оранжерийни условия, като ежедневно са поливани с количеството вода, което са изразходвали за 48 часа.

Математическата обработка на резултатите е извършена със статистическата компютърна про-

грама SYSTAT® 10. След проверка на данните за нормалността на разпределението (тест Kolmogorov-Smirnov) са използвани параметрични тестове за анализ. За определяне влиянието на изпитваните фактори е използван дисперсионен анализ (ANOVA). Средните стойности са сравнени чрез тест на Tukey.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Ефект от третиране с Fertiactyl®GZ и заразяване с Meloidogyne spp. самостоятелно или в комбинация върху растежа на растенията

Резултатите след 5 седмици от заразяване с галови нематоди и третиране с Fertiactyl®GZ самостоятелно или в комбинация върху растежа на растенията, са показани в табл. 1. От данните се вижда, че статистически достоверни разлики между вариантите относно височината на растенията не са установени. Свежата маса на растенията и свежата маса на кореновата система са значително по-ниски при варианта, заразен с *Meloidogyne*

spp. самостоятелно (с 26,7% и 21,2%) в сравнение с незаразените контролни растения. За тези параметри на растежа значително понижаване бе наблюдавано и когато растенията бяха заразени с *Meloidogyne* spp. и третирани с Fertiactyl®GZ една седмица по-късно.

При едновременно заразяване с *Meloidogyne* spp. и третиране с Fertiactyl®GZ се наблюдава повишаване свежата маса на растенията (със 17%) в сравнение с незаразените контролни растения. Заразяването само с *Meloidogyne* spp. една седмица по-късно намалява свежата маса на растенията и свежата маса на кореновата система (с 19,7% и съответно с 11,2%) в сравнение с незаразените контролни растения.

При варианта заразяване с *Meloidogyne* spp., последвано от третиране с Fertiactyl®GZ една седмица по-късно води до намаляване на свежата маса на растенията и свежата маса на кореновата система (с 36,1% и 15,2 % съответно) в сравнение с незаразените контролни растения, но третирани с Fertiactyl®GZ.

Ефект от третиране с Fertiactyl®GZ и заразяване с Meloidogyne spp. самостоятелно или в комбинация върху проявата на симптоми на повреда

В предварителни опити бе установено, че при силно нападение от галови нематоди сортът Рали при оранжерийни условия проявява силно изразени симптоми на повреда като пожълтяване и увяхване през часовете с високи температури.

Процентът на растенията, които показват симптоми на повреда е най-нисък при незаразените (фиг. 1). При тях в края на опита около 7% от растенията проявяваха симптомите. Резултатите показват, че като цяло процентът на заразените растения, проявяващи симптоми на повреда, намалява след третиране с Fertiactyl®GZ. Във вариантите с *Meloidogyne* spp. процентът растения със симптоми на повреда се увеличава с времето. На първата и третата седмица след заразяване процентът растения със симптоми е значително по-висок във варианта, при който растенията са заразявани с *Meloidogyne* spp. и една 1 седмица по-късно са третирани с Fertiactyl®GZ в сравнение с варианта, при който растенията са третирани с Fertiactyl®GZ и след една седмица са заразени с *Meloidogyne* spp., но при тези варианти процентът растения, които проявяват симптоми на повреда са доказано по-малко в сравнение с варианта без Fertiactyl®GZ.

Резултатите на 5-та седмица показват достоверни разлики между вариантите. Процентът растения със симптоми е статистически доказан в сравнение с незаразените в контролите в края на опита: около 51% от растенията, заразени с *Meloidogyne* spp. и 21% при заразяване с *Meloidogyne* spp. и 1 седмица по-късно последвало третиране с Fertiactyl®GZ,

в сравнение с около 9% при растенията от варианта, третирани с Fertiactyl®GZ и след това заразени с *Meloidogyne* spp.

Влияние на третирането с Fertiactyl®GZ върху репродуктивната способност на нематодите

Ефектът от заразяване с *Meloidogyne* spp., респ. третирането с Fertiactyl®GZ върху плътността на галовите нематоди и образуването на гали (Root galling index, RGI) е посочен в табл. 2. Статистически доказан ефект при едновременно, предварително или последващо третиране с Fertiactyl®GZ върху плътността на *Meloidogyne* spp. (на 100 г почва и 5 г корени) не бе наблюдаван. Заразяването с 5000 ларви/10 ml доведе до средна плътност на нематодите около 8993 ларви/коренова система след 5 седмици, което е увеличение на плътността с 1,8 пъти. При едновременно заразяване с *Meloidogyne* spp. и третиране с Fertiactyl®GZ средната плътност на нематодите след 5 седмици бе 20 995 ларви/коренова система, което е увеличение с около 5 пъти. За подобни резултати съобщава и Ahmed (1999) при третиране със синтетични фитохормони (индолинова киселина (IAA) и кинетин). Авторът наблюдава увеличение на числеността на нематодите от род *Meloidogyne* с 23%. Този брой е значително по-нисък (7562 ларви/коренова система) при заразяване с *Meloidogyne* spp. и последващо една седмица по-късно третиране с Fertiactyl®GZ, което може да се обясни с факта, че третирането с Fertiactyl®GZ стимулира развитието на кореновата система и подхранва растенията.

Fertiactyl®GZ, приложен при заразени растения проявява стимулиращ ефект върху растежа им. Репродуктивната способност на галовите нематоди не е понижена. Въпреки че е отчетено завишаване на плътността на нематодите, симптомите на повреда не се проявяват, което дава основание да се предположи, че причина за това е индуцирана толерантност.

В аналогични полски и оранжерийни опити Guimarães et al. (2008) провеждат изследвания върху жизнения цикъл на *Meloidogyne incognita* и образуването на гали по захарна тръстика сорт RB92579 при използване на Fertiactyl®GZ. Получените с помощта на молекулярни маркери резултати доказват индуцирана устойчивост към галовите нематоди. Индуцирането на устойчивост на растенията към нематодите се определя от вида на индикатора и патогена, и от взаимоотношенията гостоприемник-вредител (Salgado & Silva, 2005; 2007).

ИЗВОДИ

Течният коренов биостимулатор има стимулиращ ефект върху растежа и развитието на растения, заразени с *Meloidogyne* spp. Тестваният сорт домати Рали след третиране с Fertiactyl®GZ не проявяваха симптоми на повреда.

Репродуктивната способност на нематодите от род *Meloidogyne* след третиране на растенията с Fertiactyl®GZ е завишена с 23% в сравнение с контролата. Въпреки че е отчетено повишаване на плътността на нематодите, растежът и развитието на заразените растения е подобро, което дава основание да се предположи, че причина за това е индуцирана толерантност.

Получените резултати са основание за по-нататъшно обсъждане на възможните механизми на въздействие и прилагането на Fertiactyl®GZ в растителнозащитната система за контрол с галовите нематоди при домати, отглеждани в култивационни съоръжения.

ЛИТЕРАТУРА

- Самалиев, Х., Д. Стоянов.** 2008. Паразитни нематоди по културните растения и борбата с тях. АУ, Пловдив, 350
- Ahmed, S.** 1999. Wirkungen des Rhizobakteriums *Bacillus subtilis* auf den Befall von Tomatenpflanzen durch Wurzelgallen - (*Meloidogyne* spp.) und Wurzelläsions-Nematoden (*Pratylenchus* spp.). Dissertation. Humboldt-Universität zu Berlin, 169
- Assunção, A., L. C. Santos, M. R. Da Rocha, A. J. S. Reis, R. A. Teixeira & F. S. O. Lima.** 2010. Efeito de Indutores de Resistência sobre *Meloidogyne incognita* em Canade-açúcar (*Saccharum* spp.). *Nematologia Brasileira Piracicaba*, Vol. 34(1), 56-62
- Atkins, S. D., I. M. Clark, S. Pande, P. R. Hirsh, B. K. Kerry.** 2005. The use of real-time PCR and species-specific primers for the identification and monitoring of *Paecilomyces lilacinus*. *FEMS Microbiology and Ecology*, 51, 257-263
- Guimarães, L. M. P., E. M. R. Pedrosa, R. S. B. Coelho, A. Chaves, S. R. V. L. Maranhão, T. L. Miranda.** 2008. Efeito de metil jasmonato e silicato de potássio no parasitismo de *Meloidogyne incognita* e *Pratylenchus zeae* em cana-de-açúcar. *Nematologia Brasileira*, 32 (1), 50-55
- Hooper, D. J., Hallmann, J. & Subbotin, S. A.** 2005. Methods for extraction, processing and detection of plant and soil nematodes In: *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture* (Luc, M., Sikora, R.A. and Bridge, J., eds). CAB International, Wallingford, UK, 53-86
- Hussey, R. S., K. R. Barker.** 1973. A comparison of methods of collecting inocula for *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter*, 57, 1025-1028
- Salem, F. M., A. A. Midan.** 1980. Effects of plant growth regulator Cycocel on tomato seedlings and their infection by root-knot nematode. *Meloidogyne javanica*, *Anz. Schädlingsk. Pflanzensch., Umweltschutz.*, 53, 169-170
- Salgado, S. M. L., L. H. C. P. Silva.** 2005. Potencial da indução de resistência no controle de fitonematóides. In: Cavalcanti, L. S., R. M. Di Pietro, S. F. Pascholati, M. L. V. Resende & R. S. Romero (ed). *Indução de Resistência em Plantas a Patógenos e Insetos*. FEALQ, Piracicaba, 155-168
- Salgado, S. M. L., M. L. V. Resende, V. P. Campos.** 2007. Efeito de indutores de resistência sobre *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. *Ciência Agrotécnica*, 31 (4), 1007-1013
- Sasser, J. N., C. C. Carter.** 1985. *An Advanced Treatise on Meloidogyne*. Vol. I: Biology and Control. North Carolina State University Graphics, 422 p.
- Speijer, P. R., De Waele, D.** 1997. Screening of *Musa* germplasm for resistance and tolerance to nematodes. INIBAP Technical Guidelines 1. INIBAP, Montpellier, France, 47 p.