

MORFOLOŠKE IN FIZIOLOŠKE SPREMEMBE PRI PARADIŽNIKU PO NAPADU OGOR ICE *Meloidogyne ethiopica*

Polona STRAJNAR¹, Saša ŠIRCA², Dominik VODNIK³, Barbara GERI STARE⁴,
Gregor UREK⁵

^{1,2,4,5} Kmetijski inštitut Slovenije, Oddelek za varstvo rastlin, Ljubljana

³ Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Ljubljana

IZVLE EK

Ogor ice *Meloidogyne ethiopica* se hranijo in razmnožujejo v koreninah rastlin, na katerih posledično povzročijo nastanek koreninskih šišek. Poškodbe, ki jih povzročijo na rastlinah, se odražajo v spremenjenih fizioloških procesih v rastlini in so odvisne od same velikosti populacije ogoric in vrste gostiteljske rastline. V raziskavi smo vrednotili hidravlično prevodnost korenin in vodni potencial v listih ter morfološke spremembe na koreninah paradižnika po napadu prve in druge generacije ogoric *M. ethiopica* (74 DPI in 102 DPI). Rastline so bile izpostavljene dvema stopnjama inokuluma jajec (10 oz. 50 jajec na 1 cm³ rastnega medija). Analiza je pokazala, da napad ogoric povzročijo tudi morfološke spremembe koreninskega sistema, spremembe pa so se z drugim rodom ogoric tudi povečale. Delež drobnih oz. debelih korenin je imel velik vpliv na meritve hidravlične prevodnosti korenin ter na vodni potencial v listih, medtem ko število rastnih vršičkov na te meritve ni imelo vpliva. Velikost populacije ogoric in čas napada sta vplivala na dolžino celotnega koreninskega sistema; z večanjem populacije in daljšim časom napada se je dolžina celotnega koreninskega sistema zmanjšala.

Ključne besede: ogorice koreninskih šišek, morfologija korenin, hidravlična prevodnost korenin, vodni potencial listov

ABSTRACT

MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL CHANGES IN TOMATO AFTER *Meloidogyne ethiopica* NEMATODE INFESTATION

The root knot nematodes *Meloidogyne ethiopica* feed and reproduce on the plant roots, which consequently leads to the formation of the root galls. The population size as well as the type of the host plants influences the damage on the plants, which manifests itself as changes in the physiological processes in plants. We evaluated the hydraulic conductivity of the roots, leaf water potential and morphological changes of the roots after the infestation with the first and the second generation of *M. ethiopica* (74 DPI and 102 DPI). The plants were inoculated with two nematode inoculum densities at 10 and 50 eggs per 1 cm³ of the growth medium. The analysis showed that the nematode infestation induces morphological changes of the root system and these changes intensified with the second nematode generation. We showed that the portion of the fine and course roots has a major influence on the hydraulic conductivity and the water potential in leaves, while the number of the root tips had no influence on these measurements. The nematodes population density of and the time

¹ dr., univ. dipl. inž. agr., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana; e-naslov: polona.strajnar@kis.si

² dr., univ. dipl. inž. agr., prav tam

³ red. prof. dr., univ. dipl. biol., Jamnikarjeva 101, SI-1000 Ljubljana

⁴ dr., univ. dipl. biol., Hacquetova ulica 17, SI-1000 Ljubljana

⁵ doc. dr., univ. dipl. inž. agr., prav tam

of infestation influenced the length of the whole root system; higher nematode density and longer infestation time reduced the length of the whole root system.

Key words: root knot nematode, root morphology, root hydraulic conductivity, leaf water potential

1 UVOD

Ogor ica koreninskih šišek uvršamo med obligatne rastlinske endoparazite in so med rastlinsko parazitskimi ogoricami gospodarsko najbolj pomembna skupina škodljivcev (Karssen in Moens, 2006). Na nadzemskem delu rastlin povzročajo napad ogorice, nezna ilna znamenja, saj le ta spominjajo na znamenja, ki jih na rastlinah povzročijo nekateri bioti ali abioti ali dejavniki. Nasprotno pa napad ogorice na podzemnem delu rastlin povzročajo znane ilne poškodbe, t.i. šiške. Zadebelitve na koreninah oz. šiške so pravzaprav mesta, kjer se ogorice prehranjujejo in posledično ustvarjajo gigantske – večjedrne celice, v katerih potekajo celične delitve brez faze citokineze. V gigantskih celicah se celične stene povečujejo, kar omogoča vstop vode in raztopljenih metabolitov iz ksilema (Jones in Payne, 1978). Zmanjšane zaloge vode v rastlini vplivajo tako na fiziološke, kot tudi na biokemične procese v rastlini, npr. na fotosintezo, dihanje, prevajanje ionov z vodo, stopnjo zaloge hranil, vsebnost rastlinskih pigmentov itd. (Jaleel in sod., 2008, 2009).

V raziskavi smo preučili povezavo med morfološkimi spremembami na koreninah (analiza površine in dolžine celotnega koreninskega sistema), ki nastanejo kot posledica napada prvega in drugega rodu ogorice *M. ethiopica*, z meritvami hidravlične prevodnosti korenin ter vodnega potenciala v listih.

2 MATERIAL IN METODE DELA

2.1 Priprava jajec *M. ethiopica* za inokulacijo

V rastlinjaku smo na paradižniku cv. Volovsko srce namnožili ogorice vrste *M. ethiopica*, katere populacija izvira iz Slovenije (Širca in sod., 2004). Jajeca za inokulacijo smo pripravili po Hussey in Barker-jevi metodi (1973), katera smo nadalje oistili po prirejeni metodi McClur-ja in sod. (1973).

2.2 Lonni poskus

Poskus je potekal na prostem pod pokritim prostorom, od maja do avgusta na Kmetijskem inštitutu Slovenije. Povprečna temperatura zraka v času poskusa je bila 20,6 °C (vir: ARSO). Poskus smo izvedli na paradižniku cv. Volovsko srce, kateri se je izkazal za odličen gostitelj ogorice *M. ethiopica* (Strajnar in sod., 2011). Paradižnike smo posadili v 5 l lonce, katere smo napolnili z mešanico kremenčevega peska (0,25-1 mm) in ekspanzirane gline (1-4 mm) v razmerju 3:1. Rastline smo po potrebi zalivali s hidroponskimi gnojili Flora Micro (5-0-1), Flora Bloom (0-5-4) in Flora Gro (3-1-7) po navodilih proizvajalca (General Hydroponics Europe). Dva meseca stare paradižnike smo okužili s 50 000 jajeci na lonec oz. 250 000 jajeci na lonec. Na obravnavanju smo imeli deset ponovitev in kontrolo. Vstop prvega ter drugega rodu ogorice v korenino oz. čas vrednotenja smo določili na podlagi razvojne krivulje, ki opisuje dolžino razvojnega kroga vrste *M. ethiopica* pri določeni temperaturi (Strajnar in sod., 2011).

2.3 Morfologija korenin

Dolžino in površino korenin ter število rastnih vršičkov smo merili 74 in 102 dan po inokulaciji z jajeci *M. ethiopica*. Koreninski sistem smo skenirali z optičnim skenerjem Epson Perfection

V700 photo. S programom WinRHIZO (v2002c, Régent Instruments Inc.) smo koreninski sistem analizirali po treh debelinskih razredih; razred drobnih korenin (do premera korenin 0,5 mm), razred srednjih korenin (od 0,5 do 1,5 mm) ter razred debelih korenin (ve kot 1,5 mm).

2.4 Hidravli na prevodnost korenin ter vodni potencial v listih

Hidravli no prevodnost korenin smo merili na treh koreninah po obravnavanju. Rastlino paradižnika smo previdno odstranili iz mešanice peska in glinopora, katero smo nadalje rahlo otresli in postavili v tla no komoro. Steblo paradižnika smo odrezali 10 cm nad koreninskim vratom iz katerega smo nato pri tlaku 0,2 MPa 5 minut pobirali ksilemski sok. Hidravli no prevodnost smo izrazili kot težo ksilemskega soka na minuto. Vodni potencial smo merili na petih mladih paradižnikovih listih na obravnavanje. Meritve so potekale opoldne, na popolnoma osvetljenih listih s Scholandrovo tla no komoro 3005-1223 (Scholander in sod., 1964).

2.5 Statisti na analiza

Statisti no analizo podatkov smo opravili s programom Statgraphics XVI (StatPoint Technologies Inc., USA). Podatke smo obdelali z analizo variance (ANOVA) ter za primerjavo povpre ij hidravli ne prevodnosti korenin, vodnega potenciala v listih ter morfološke analize korenin smo uporabili Duncanov preizkus mnogoterih primerjav z upoštevanjem 5% tveganja. Pri prikazu povezanosti med vodnim potencialom v listih ter hidravli no prevodnostjo korenin z morfološki spremembami na koreninah smo uporabili Pearsonov korelacijski koeficient z upoštevanjem 5% tveganja.

380

3 REZULTATI IN RAZPRAVA

Analiza koreninskega sistema je pokazala, da vstop prvega in drugega rodu ogoric v korenino vpliva na morfološke spremembe koreninskega sistema, vpliv pa se z drugim rodом ogoric še pove a. To potrjujejo tako meritve drobnih kot debelih korenin, saj se je pri rastlinah okuženih z nižjim inokulom površina drobnih korenin z vstopom drugega rodu ogoric zmanjšala iz 39,2 na 24,9%, medtem ko pri rastlinah okuženih z višjim inokulom iz 33,1 na 22,8% (glej preglednico 1). Nasprotno se je pri napadenih rastlinah zaradi razvoja koreninskih šišek, pove ala površina debelih korenin z vstopom drugega rodu ogoric; pri rastlinah, okuženih z manjšim številom jaj ec, se je delež debelih korenin pove al s 13,1 na 40,3%, pri rastlinah okuženimi z ve jim številom jaj ec pa s 24,4 na 41,5%. Pri kontrolnih rastlinah je bil delež debelih korenin pri obeh vrednotenjih enak, 4,6%. Pri drugem vrednotenju smo pri obravnavanjih z ogorico izmerili približno ista deleža debelih korenin, 41% (glej tabelo 2). Rezultati nakazujejo zmanjšano reprodukcijo ogoric pri rastlinah z visoko za etno populacijo, kar je zasledil tudi Di Vito in sod. (2004) na fižolu napadenim z ogorico *M. incognita* ter na vinski trti napadeni z ogorico *M. ethiopica* (Di Vito in sod., 2009).

Daljše obdobje parazitiranja vpliva na skupno dolžino koreninskega sistema, saj se je z vstopom li ink drugega rodu skupna dolžina korenin zmanjšala za 1,7-krat pri obravnavanju z manjšo populacijo oz. 2,5-krat pri obravnavanju z ve jo populacijo (glej sliko 1).

Razvoj koreninskih šišek na napadenih rastlinah vpliva na u inkovitost transporta vode in hranil po koreninah, kar je pokazala tudi naša raziskava. Deleži debelih korenin se odražajo v volumnu ekstrahiranega ksilemskega soka pri prvem vrednotenju, medtem ko pri drugem vrednotenju pri rastlinah napadenih z ogorico nismo ekstrahirali ksilemskega soka. Rezultate si lahko razlagamo z dejstvom, da ve jedrne celice povzro ajo prekinitve prevodnih tkiv in razvoj nenormalnih ksilemskih elementov (Meon in sod., 1978). Pri meritvah vodnega

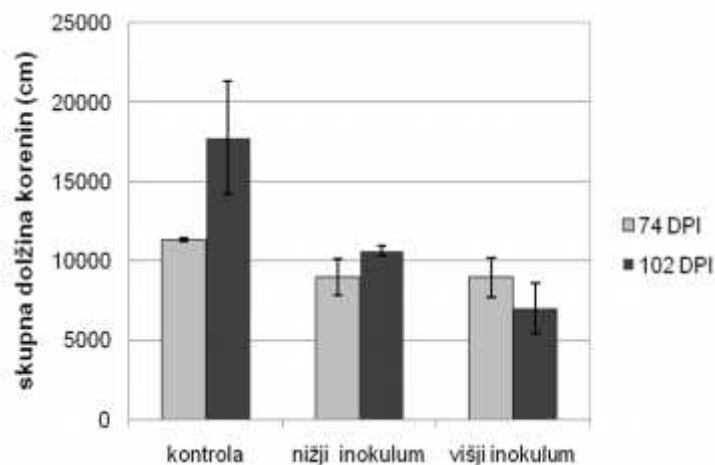
potenciala v listih smo dobili razlike samo med napadenimi in nenapadenimi - kontrolnimi rastlinami, torej velikost populacije na te meritve ni imela vpliva (glej preglednici 2 in 3).

Preglednica 1: Vpliv stopnje inokulacije ter asa parazitiranja vrste *M. ethiopica* na dolžino in površino koreninskega sistema pri paradižniku.

OBRAVNAVANJE	POVRŠINA KORENINE [%]			SKUPNA POVRŠINA KORENINE (cm ²)
	0.0<d 0.5 (drobne k.)	0.5<d 1.5 (srednje k.)	d>1.5 (debele k.)	
74 DPI				
Kontrola	51,4 ± 0,6 a	44,1 ± 0,7 ab	4,5 ± 0,4 a	1260,3 ± 26,7
Nižji inokulum	39,2 ± 1,7 b	47,7 ± 0,2 a	13,1 ± 1,6 b	1193,6 ± 146,3
Višji inokulum	33,1 ± 2,6 c	42,5 ± 0,2 b	24,4 ± 2,6 c	1345,0 ± 121,2
102 DPI				
Kontrola	51,7 ± 2,8 a	43,6 ± 1,5 ab	4,7 ± 1,3 a	1941,0 ± 454,8
Nižji inokulum	24,9 ± 1,7 d	34,8 ± 1,8 c	40,3 ± 2,5 d	1915,2 ± 47,3
Višji inokulum	22,8 ± 0,7 d	35,7 ± 2,1 c	41,5 ± 2,7 d	1367,0 ± 319,2
ANOVA P	0,0000	0,0001	0,0000	

Podatki predstavljajo povpre ja treh ponovitev ± SN; a, b,c ter d predstavljajo homogeno skupino (ni signifikantnih razlik) pri P = 0.05 na podlagi Duncanovega razvrstitvenega testa.

381



Slika 1: Vpliv prvega in drugega rodu ogoric na skupno dolžino korenin glede na ne-napadene rastline.

Preglednica 2: Vpliv stopnje inokulacije na hidravlično prevodnost korenin ter na vodni potencial v listih 74 dan po inokulaciji.

OBRAVNAVANJE	HIDRAVLIČNA PREVODNOST [g s ⁻¹ cm ⁻² MP ⁻¹ s ⁻¹]	VODNI POTENCIAL [MP]
Kontrola	0,26 ± 0,02 a	-0,84 ± 0,03 a
Nižji inokulum	0,18 ± 0,02 b	-0,98 ± 0,04 b
Višji inokulum	0,06 ± 0,03 c	-1,07 ± 0,04 b
ANOVA P	0,0015	0,0038

Podatki predstavljajo povpre ja treh (hidravlična prevodnost) oz. petih ponovitev (vodni potencial) ±SN; a, b ter c predstavljajo homogeno skupino (ni signifikantnih razlik) pri P = 0.05 na podlagi Duncanovega razvrstitvenega testa.

Preglednica 3: Vpliv stopnje inokulacije na hidravli no prevodnost korenin ter na vodni potencial v listih 102 dan po inokulaciji.

OBRAVNAVANJE	HIDRAVLI NA PREVODNOST [g min ⁻¹]	VODNI POTENCIAL [MPa]
Kontrola	0,26 ± 0,01 a	-1,01 ± 0,04 a
Nižji inokulum	0 b	-1,17 ± 0,03 b
Višji inokulum	0 b	-1,24 ± 0,05 b
ANOVA P	0,0000	0,0040

Podatki predstavljajo povpre ja treh (hidravli na prevodnost) oz. petih ponovitev (vodni potencial) ± SN; a in b predstavljajo homogeno skupino (ni signifikantnih razlik) pri P = 0,05 na podlagi Duncanovega razvrstitvenega testa.

Pri prvem vrednotenju so na hidravli no prevodnost korenin zna ilno vplivale tako debele korenine kot tudi drobne korenine, medtem ko so na vodni potencial v listih vplivale samo drobne korenine. Na meritve hidravli ne prevodnosti korenin ter vodnega potenciala v listih skupna dolžina korenin ter število rastihi vrši kov nista vplivala (glej preglednico 4). Pri drugem vrednotenju na hidravli no prevodnost korenin zna ilno vplivajo drobne korenine ter velik negativni vpliv se kaže pri zastopanosti debelih korenin. Število rastihi vrši kov na hidravli no prevodnost korenin ne vpliva. Na vodni potencial v listih imajo drobne in debele korenine manj vpliva, kot ga imajo na hidravli no prevodnost korenin pri drugem vrednotenju. Skupna dolžina korenin ter število rastihi vrši kov na vodni potencial v listih ne vplivata (preglednica 4).

382

Preglednica 4: Vpliv morfoloških sprememb korenin na hidravli no prevodnost korenin ter na vodni potencial v listih.

		DROBNE KORENINE %	SREDNJE KORENINE %	DEBELE KORENINE %	SKUPNA DOLŽINA KORENIN (cm)	ŠTEVILO RASTNIH VRŠI KOV
74 DPI	HIDRAVLI NA	0,8564*	0,3823	-0,9119	0,3611	0,0117
	PREVODNOST	0,0032**	0,3099	0,0006**	0,3398	0,9762
	VODNI	0,6769	0,0873	-0,6631	0,3677	0,0805
	POTENCIAL	0,0452**	0,8234	0,0515	0,3302	0,8370
102 DPI	HIDRAVLI NA	0,9629	0,8377	-0,9731	0,7683	0,3275
	PREVODNOST	0,0000**	0,0048**	0,0000**	0,0156**	0,3896
	VODNI	0,7292	0,4884	-0,6973	0,5552	0,3624
	POTENCIAL	0,0258**	0,1822	0,0368**	0,1207	0,3378

*Pearsonov koeficient korelacije;** P = 0,05; n=9

4 SKLEPI

Ve jedrne celice v korenini, ki nastanejo zaradi parazitiranja ogoric koreninskih šišek vplivajo na fiziološke lastnosti rastline. Najveji vpliv na morfološke spremembe koreninskega sistema je imel drugi rod ogoric, saj se je glede na kontrolo zmanjšala tako skupna dolžina korenin, kot tudi površina drobnih korenin. Nasprotno pa se je zaradi razvoja koreninskih šišek pri napadenih rastlinah povečala površina debelih korenin. Razvoj koreninskih šišek pri napadenih rastlinah pomembno vpliva na učinkovitost transporta vode in

hranil po koreninah, kar smo potrdili z meritvijo hidravli ne prevodnosti rastlin. Ugotovili smo, da velikost populacije ogoric ni vplivala na meritve vodnega potenciala v listih, saj smo razliko med meritvami zaznali le med napadenimi in nenapadenimi rastlinami.

5 ZAHVALA

Dr. Petru Železniku iz Gozdarskega inštituta Slovenije se zahvaljujemo za pomoč pri analizi koreninskega sistema s programom WinRHIZO (v2002c, Régent Instruments Inc.).

6 LITERATURA

- Di Vito M., Parisi B., Catalano F. 2004. Effect of population densities of *Meloidogyne incognita* on common bean. *Nematologia Mediterranea*, 32: 81-85.
- Di Vito M., Magunacelaya J.C., Ahumada T., Catalano F. 2009. Relationships between initial population densities of *Meloidogyne ethiopica* and growth of vinifera grape in pots. *Nematologia Mediterranea*, 37: 105-108.
- Hussey, R.S. & Barker, K.R. 1973. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Reporter* 57: 1025-1028.
- Jaleel C.A., Manivannan P., Lakshmanan G.M.A., Gomathinayagam M., Panneerselvam R. 2008. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficit. *Colloids and Surfaces. B: Biointerfaces*, 61: 298-303.
- Jaleel C.A., Manivannan P., Wahid A., Farooq M., Somasundaram R., Panneerselvam R. 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characterisation. *International Journal of Agriculture & Biology*, 11: 100-105.
- Jones M.J.K, Payne H. L. 1978. Early stages of nematode-induced giant cell formation in roots of *Impatiens balsamina*. *Journal of Nematology*, 10: 70-84.
- Karssen G., Moens M. 2006. Root-knot nematode. V: *Plant Nematology*. Perry R.N., Moens M. (ur.). London, CABI: 59-90.
- McClure, M.A., Kruk, T.H. & Misaghi, I. 1973. A method for obtaining quantities of clean *Meloidogyne* eggs. *Journal of Nematology*, 5, 230.
- Meon S., Wallace H.R., Fisher J.M. 1978. Water relations of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Early Dwarf Red) infected with *Meloidogyne javanica* (Treub), Chitwood. *Physiological Plant Pathology*, 13: 275-281.
- Scholander PF, Hammel HT, Hemmingsen EA, Bradstreet ED, 1964. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 52, 119-125.
- Strajnar P., Širca S., Knapi M., Urek G. 2011. Effect of Slovenian climatic conditions on the development and survival of the root-knot nematode *Meloidogyne ethiopica*. *European Journal of Plant Pathology*, 129: 81-88.
- Širca S., Urek G., Karssen G. 2004. First report of the root-knot nematode *Meloidogyne ethiopica* on tomato in Slovenia. *Plant Disease*, 88: 680.