

тальным группам также наблюдаются отличия, но в графическом варианте по сравнению с признаками названных групп они выделяются менее четко.

Исходя из вышеизложенного, можно отметить, что выявленные фенетические различия могут указывать на различия фенотипов популяций жулицицы *C. menetriesi*, обитающих на низинных болотах «Званец» и «Дикое».

В двух изученных совокупностях жулицицы *C. menetriesi* нами выявлены:

- 1). достоверные морфометрические отличия между самками и самцами;
- 2). межгодовые морфометрические отличия у особей обоих полов. Год сбора в большей степени влияет на морфометрические параметры, чем на относительные индексы морфометрических промеров самцов и самок жулицицы *C. menetriesi*, что может быть объяснено большим влиянием различных природных факторов на абсолютные размеры тела и его частей, чем на пропорции;
- 3). достоверные различия фенотипов между жулицицами двух исследованных болотных массивов.

Последний факт позволяет утверждать, что на болотных массивах «Званец» в Дрогичинском районе и «Дикое» в Пружанском районе сформированы две самостоятельные популяции жулицицы *C. menetriesi*.

1. Животовский, Л.А. // Журн. общ. биологии. 1979. Т. 40. № 4. С. 587.
2. Яблоков, А.В., Ларина, Н.И. Введение в фенетику популяций. Новый подход к изучению природных популяций. М., 1985. С. 131.
3. Александрович, О.Р. // Фауна и экология жесткокрылых Беларуси. Мн., 1991. С. 43.
4. Красная Книга Республики Беларусь: Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды диких животных. Мн., 2004. С. 217.
5. Минец, Р.Л. // Итоги и перспективы гидроэкологических исследований: Материалы Междунар. науч. конф., Минск, 25-26 нояб. 1999 г., Мн. 1999. С. 162.
6. Минец, Р.Л. // Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 2. 2000. № 2. С. 56.
7. Новоженков, Ю.И. // Зоол. журн. 1978. Т. 57. Вып. 6. С. 857.
8. Минец, Р.Л. // Разнообразие животного мира Беларуси: итоги изучения и перспективы сохранения: Материалы Междунар. науч. конф., Минск, 28-30 нояб. 2001 г. Мн., 2001. С. 107.
9. Шиленков, В.Г. Жулицицы рода *Carabus* L. (Coleoptera, Carabidae) Южной Сибири. Иркутск, 1996. С. 14.
10. Захаров, В.М. Асимметрия животных. М., 1987. С. 17.
11. Sokal, R.R., Rohlf, J.F. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. New York, 2001. P. 738.
12. Рокицкий, П.Ф. Биологическая статистика. Мн., 1967. С. 321.

Поступила в редакцию 10.03.05.

Маргарита Леонидовна Минец - ассистент.
Василий Витальевич Гричик - заведующий кафедрой.

УДК 582.288:631.53.011.2

М.А. СТАДНИЧЕНКО, В.Д. ПОЛИКСЕНОВА

ТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРОДУКТОВ МЕТАБОЛИЗМА *BOTRYTIS CINEREA* PERS. НА СПОРОФИТНОЕ И ГАМЕТОФИТНОЕ ПОКОЛЕНИЕ ТОМАТА

Botrytis cinerea Pers. may cause to great degree losses of solanaceae crops yield. The influence of this fungus metabolites have been studied on germinating seeds and pollen, as well as on the germ and growth pipes formation of tomato. The selective inhibition on germinating seeds and pollen have been established.

В большинстве случаев причиной экономических потерь сельскохозяйственного производства во всех странах мира являются инфекционные болезни растений, вызываемые паразитическими грибами. В результате угнетения роста и развития поврежденных растений снижается качество получаемой продукции. За последние несколько десятков лет потери урожая от болезней составляют 20-30 % ежегодно вне зависимости от географического положения, степени промышленного развития, специфики возделываемых культур и природно-климатических условий [1].

Результаты исследований на территории Беларуси показывают, что произошли значительные изменения видового состава фитопатогенных грибов [2]. Возросла вредоносность широкоспециализированных паразитов, которые поражают различные ткани и органы и имеют широкий круг растений-хозяев'. В частности, к группе неспециализированных патогенов относится возбудитель серой гнили *Botrytis cinerea* Pers., периодически вызывающий значительные по масштабам поражения многих видов растений в защищенном и открытом грунте. На территории Беларуси ботритиоз проявляется в любое время года, особенно если стоит прохладная и пасмурная погода. Основная форма болезни - поражение плодов, но заражению подвержены также листья (особенно нижних ярусов), стебли, цветочные кисти [3, 4]. Стеблевая форма становится весьма распространенной и является наиболее вредоносной, поскольку приводит к довольно быстрой и полной гибели всего растения [5]. Гриб может проникать через ранки, устьица, при определенных условиях - прямо через ткани [6]. Основными источниками инфекции являются конидии и склероции гриба, прорастающие на растительных остатках в мицелий.

Несмотря на то что *B. cinerea* имеет огромное количество питающих растений, у этого исключительно многоядного паразита можно установить разновидности, отличающиеся морфологическими признаками и биологическими особенностями (образование склероциев, сумчатое плоношение, повышенная вирулентность к тем или иным питающим растениям) [7]. В связи с ростом вредоносности в защищенном грунте и появлением признаков специализации возбудителя к культуре томата [8] перед нами стояла задача изучить специфичность токсического действия метаболитов гриба на спорофит (растение) и мужской гаметофит (пыльцу) томата. Изучение влияния токсинов *B. cinerea* позволит глубже понять процессы взаимодействия патогена и растения, а в дальнейшем метаболиты смогут найти применение в селекции на ботритиозоустойчивость.

Материалом для исследования служили моноспорные изоляты гриба *B. cinerea*, которые были получены из пораженных растений перца и томата с использованием общепринятых методик [9]. Фитотоксическую активность изолятов изучали на основе различий при воздействии пятнадцатисуточной культуральной жидкостью изолятов, выращенных на жидкой среде Чапека, на томаты сортов Ружа, Перемога 165, Silvana. Семена (по 100 шт.) замачивали в культуральной жидкости на 24 ч, контрольные семена - в воде, затем раскладывали на влажную фильтровальную бумагу в чашки Петри и проращивали в течение 5 сут при температуре 22 °С.

Учитывали влияние метаболитов патогена на первоначальные этапы развития растения: прорастание семян, интенсивность ростовых процессов подземной и наземной частей томата (табл. 1). Было установлено, что культуральные жидкости оказывают существенное ингибирующее воздействие на начальный рост корешка. По сравнению с контрольными вариантами, когда семена замачивали в воде, через 3 сут длина корешков в опытных вариантах оказалась меньше у всех сортов томата. В дальнейшем (к 5 сут) различия стали менее контрастными, но оставались достоверными. Отмечено, что культуральные жидкости изолятов обладают дифференцированной токсичностью по отношению к спорофиту томата, что свидетельствует о внутривидовой неоднородности возбудителя по агрессивности. Так, относительно высокую фитотоксическую активность проявили изоляты 762, 764, 1003, 1004, 543, 101, 104, 823, 801, 802, 805, 792, 793, 794, 795.

Нами также была проведена оценка влияния изолятов *B. cinerea* на гаметофитное поколение - жизнеспособность пыльцы и рост пыльцевых трубок томата сортов Перемога 165 и Ружа. Пыльцу извлекали из предварительно подсушенных в течение 2-3 ч цветков исследуемых сортов. Одну часть пыльцы проращивали методом висячих капель на среде (контроль), содержащей 15 % сахарозы, 0,0006 % борной кислоты, 0,5 % агар-агара и 100 мл дистиллированной воды, вторую часть - на оптимальной среде с добавлением токсичного агента. Проращивание пыльцы проводили при температуре +25 °С в течение 20 ч [10]. Установлено, что пятнадцатисуточные культуральные жидкости всех изолятов

полностью подавляли прорастание пыльцы при концентрации фитотоксичный агент : оптимальная среда 1:2, 1:3 и 1:5. Избирательное ингибирование жизнеспособности пыльцы наблюдалось лишь при более низкой концентрации - 1:10 и 1:20. При оценке жизнеспособности в каждом варианте опыта выборка составила не менее 300 проросших пыльцевых зерен, а при измерении длины пыльцевых трубок - 100. Результаты показали, что даже при такой концентрации все изоляты значительно подавляли процесс прорастания пыльцы и ингибировали рост пыльцевых трубок относительно контроля (табл. 2).

Таблица 1

Влияние комплекса метаболитов гриба *V. silegea* на семена томата

№ изолята <i>V. silegea</i>	Прорастание				
	через 3 сут		через 5 сут		
	проросшие семена, %	длина корешка, мм	проросшие семена, %	длина корешка, мм	длина гипокотыля, мм
Сорт Ружа					
Контроль (вода)	42	9,86±0,59	60	48,16±1,26	35,3110,96
531	34	6,23±0,68	68	42,45±1,12	30,70±0,89
532	44	5,41±0,54	68	42,03±1,43	28,5311,12
533	28	6,36±0,70	54	45,00±1,67	35,30±1,04
535	44	6,82±0,49	72	42,78±1,18	25,65±1,95
762	30	2,66±0,49	60	40,13±1,20	17,2610,91
763	48	9,24±0,50	60	44,19±1,72	30,12±2,00
764	24	2,83±0,44	66	28,75±1,64	28,4811,11
765	26	6,92±0,59	62	40,10±1,35	30,00±1,48
1002	40	6,25±0,59	68	39,45±1,25	30,7010,93
1003	30	3,13±0,46	52	34,07±1,42	24,8011,13
1004	10	2,00±0,32	54	37,04±1,15	18,4611,06
Сорт Перемога 165					
Контроль (вода)	80	8,60±0,53	90	55,73±2,27	24,5711,07
1011	40	3,00±0,28	94	48,91±1,20	16,2310,90
1014	38	2,55±0,29	94	36,22±1,40	16,88±0,93
1015	70	2,25±0,20	96	47,78±2,13	20,6911,00
541	56	3,75±0,32	92	55,42±1,66	17,57±0,86
543	42	2,33±0,27	92	42,65±1,30	11,5010,81
544	52	2,04±0,22	94	34,10±1,94	9,07±0,51
545	66	2,58±0,27	96	35,8011,57	11,03±0,69
101	30	2,33±0,32	88	35,8011,50	12,1610,57
102	80	4,42±0,34	96	50,30±2,28	18,62±0,78
104	28	3,71±0,43	84	38,67±1,16	10,8010,79
Сорт Silvana					
Контроль (вода)	38	2,87±0,44	86	40,8011,37	14,5510,62
821	22	2,09±0,39	72	49,87±1,64	14,30±1,01
822	32	3,19±0,40	76	54,65±1,21	19,00±1,00
823	12	1,33±0,21	82	30,44±0,70	10,73±0,56
825	34	1,76±0,25	84	26,6711,11	6,6010,62
792	4	1,25±0,25	68	27,80±1,12	6,55±0,58
793	14	2,14±0,40	62	43,27±1,56	9,90±0,76
794	16	1,63±0,38	72	31,75±1,43	6,26±0,57
795	8	1,25±0,25	80	40,55±1,78	8,97±0,80
801	2	1,33±0,33	84	30,58±1,05	8,60±0,63
802	4	1,25±0,25	70	28,53±1,27	7,03±0,58
805	0	0	70	35,00±1,05	4,50±0,82
513	14	1,57±0,28	88	50,90±1,77	17,23±1,06
514	24	2,25±0,43	88	56,10±1,78	12,53±0,63
515	26	2,30±0,33	86	59,50±2,33	11,83±0,71

Примечание. Здесь и в табл. 2 шрифтом выделены изоляты, проявившие наибольшую фитотоксическую активность.

Культуральные жидкости изолятов 531, 1002, 1003, 1004, 101, 103, 823, 825, 793, 802, 513 можно считать более токсичными, так как в их присутствии пыльца томата не проросла даже при низкой концентрации, из них шесть - 1003, 1004, 101, 823, 802, 793 - проявили высокую токсичность и по отношению к спорофиту. Следует отметить, что многие изоляты ингибировали прорастание пыльцы при разведении 1:10. Нами также отмечена различная реакция сортов томата на токсины патогена: так, в среднем процент проросших пыльцевых зерен томата сорта Ружа был выше, чем сорта Перемога 165. На основе полученных результатов можно предположить, что сорт Ружа относительно более устойчив к возбудителю серой гнили.

Влияние токсичных метаболитов гриба *Botrytis cinerea* на прорастание пыльцы и рост пыльцевых трубок томата

№ изолята <i>B. cinerea</i>	Культуральная жидкость							
	разведение 1 : 10		разведение 1 : 20		разведение 1 : 10		разведение 1 : 20	
	Сорт Ружа				Сорт Перамога 165			
проросшие пыльцевые зерна, %	длина пыльцевой трубки, мкм	проросшие пыльцевые зерна, %	длина пыльцевой трубки, мкм	проросшие пыльцевые зерна, %	длина пыльцевой трубки, мкм	проросшие пыльцевые зерна, %	длина пыльцевой трубки, мкм	
Контроль	90	700	90	700	85	550	85	550
531	0	0	0	0	0	0	0	0
532	0	0	6	15	0	0	9	40
533	30	90	45	190	23	120	40	190
535	0	0	0	0	0	0	3	15
762	0	0	6	15	0	0	7	20
763	14	50	36	80	0	0	60	40
764	8	40	72	120	0	0	53	110
765	0	0	2	10	0	0	0	0
1002	0	0	0	0	0	0	0	0
1003	0	0	0	0	0	0	0	0
1004	0	0	0	0	0	0	0	0
1011	3	10	22	60	0	0	30	40
1014	0	0	9	20	0	0	0	0
1015	16	30	30	70	0	0	22	30
541	41	90	76	130	37	85	74	140
543	0	0	10	30	0	0	27	60
544	4	15	9	30	0	0	0	0
545	5	20	58	120	5	20	25	80
101	0	0	0	0	0	0	0	0
102	9	75	42	180	6	35	11	40
103	0	0	0	0	0	0	0	0
104	7	18	15	20	0	0	2	15
821	0	0	22	80	0	0	6	20
822	0	0	28	30	0	0	0	0
823	0	0	0	0	0	0	0	0
825	0	0	0	0	0	0	4	20
792	0	0	3	10	0	0	30	50
793	0	0	0	0	0	0	0	0
794	0	0	40	50	0	0	-	-
795	70	150	75	150	64	160	75	190
801	0	0	3	10	0	0	0	0
802	0	0	0	0	0	0	0	0
803	5	15	23	60	0	0	20	60
513	0	0	0	0	0	0	0	0
514	7	20	28	100	0	0	34	80
515	0	0	5	15	0	0	9	30

Таким образом, результаты наших экспериментов показали, что популяция *B. cinerea* полиморфна по признаку токсинообразования, а метаболиты возбудителя ботритиоза оказывают избирательное ингибирующее действие на спорофит (прорастание семян, рост проростков) и мужской гаметофит (жизнеспособность пыльцы) томата. Выделенные изоляты с относительно высоким уровнем токсического действия в дальнейшем могут быть использованы как фактор отбора болезнеустойчивых форм.

1. Митрофанов, В.И., Трикоз, Н.Н. // Эколого-экономические основы усовершенствования интегрированных систем защиты растений от вредителей, болезней и сорняков. Мн., 1996. С. 47.
2. Комарова, М.С., Корунец, И.В. // Проблемы фитопатологии в Республике Беларусь. Мн., 1996. С. 44.
3. Дементьева, М.И. Фитопатология. М., 1985. С. 190.
4. Иванюк, В.Г., Колядко, Н.Н., Комарова, М.С., Новикова, О. Т. Вредители и болезни овощных культур. Мн., 1994.
5. Поликсенова, В.Д. // Вестн. Белорус, гос. ун-та. Сер. 2. 2004. № 1.
6. Практикум по сельскохозяйственной фитопатологии / Под ред. В.А. Шкаликова. М., 2002.
7. Гешеле, Э.Э. Основы фитопатологической оценки в селекции растений. Л., 1978.
8. Поликсенова, В.Д., Баринава, С.Г., Стадниченко, М.А., Храмов, А.К. // Биология, систематика и экология грибов в природных экосистемах и агрофитоценозах. Мн., 2004. С. 192.
9. Билай, В.И. Методы экспериментальной микологии. Киев, 1988.

10. Методические указания по гаметной селекции сельскохозяйственных растений (методология, результаты и перспективы) / Под ред. В.Ф. Пивоварова. М., 2001.

Поступила в редакцию 14.03.05.

Марина Алексеевна Стадниченко - аспирант кафедры ботаники. Научный руководитель - В.Д. Поликсенова.

Валентина Дмитриевна Поликсенова - кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, заведующая кафедрой ботаники.

УДК 579.083.11

И.Н. ФЕКЛИСТОВА, Н.П. МАКСИМОВА

СИНТЕЗ ФЕНАЗИНОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ БАКТЕРИЯМИ *PSEUDOMONAS AURANTIACA* B-162

We have established that bacteria *P. aurantiaca* B-162 poses *phzC*, *phzD* and *phzE* genes and produces orange pigment with antimicrobial activity - phenazine (spectral peak maximal are 240 and 368 nm, molecular weight is 180 Da). Induction of phenazine synthesis was stimulated by fructose, glucose, glycerin and sucrose. Malonate, succinate, tryptophan, *n*-aminohybenzoic and *n*-hydroxybenzoic acid inhibited the phenazine production.

Ранее нами было показано, что бактерии *Pseudomonas aurantiaca* B-162 проявляют антимикробную активность в отношении ряда фитопатогенных микроорганизмов - возбудителей корневых и стеблевых гнилей злаков, хлорозов, плодовой гнили, бледного и темного аскохитозов гороха: *Fusarium*, *Alternaria*, *Ascochyta*, *Sclerotinia*, *Botrytis*, а также *E. herbicola*, *E. carotovora*, *P. pisi*, *P. glycinea* и *P. syringae* [1].

К числу наиболее эффективных антимикробных метаболитов, синтезируемых ризосферными бактериями, можно отнести феназиновые пигменты, которые представляют собой редокс-активные соединения с широким антибиотическим спектром действия в отношении грибов и бактерий [2-6].

Известно более 50 типов феназиновых соединений, синтезируемых различными видами *Pseudomonas*, в частности, феназин-1-карбоксилат (*P. fluorescens* и *P. aureofaciens*), 4,9-диоксифеназин (*P. ceracia*), феназин-1-карбоксамид (*P. chlororaphis*), иодинин (*P. iodina* и *P. phenazinium*), аэругинозин (*P. aeruginosa*), 2-оксифеназин-1-карбоксилат и 2-оксифеназин (*P. aureofaciens*). Как правило, бактерии одного и того же штамма могут продуцировать несколько типов феназиновых пигментов. Например, бактерии *P. aeruginosa* синтезируют пиоцианин, феназин-1-карбоксилат, феназин-1-карбоксамид и 1-оксифеназин, тогда как для представителей *P. chlororaphis* характерна продукция феназин-1-карбоксамид, хлорорафина и феназин-1-карбоксилата [4, 5]. Все названные соединения синтезируются из общего предшественника - феназин-1,6-дикарбоксилата, который образуется в результате симметричной конденсации двух молекул хоризмата (рис. 1). Следует отметить, что в настоящее время путь синтеза феназиновых соединений у бактерий *Pseudomonas* полностью не расшифрован. Наиболее изучены начальные этапы, невыясненным остается вопрос синтеза феназина, иодинина, 2-оксифеназина и т. д.

Целью данной работы являлась идентификация феназинового пути, установление типов феназиновых пигментов и оптимизация условий их синтеза у бактерий *P. aurantiaca* B-162.

Материал и методика

Штамм *P. aurantiaca* B-162 (коллекционный номер ВКМВ-162) был получен из коллекции кафедры генетики БГУ. Бактерии выращивали в среде (pH 7,2), содержащей Difco пептон (0,2 %), фруктозу (1 %), NaCl (1 %), KNO₃ (0,1 %), в течение 5 сут без аэрации. В отдельных экспериментах в качестве источника углерода использовали глюкозу, глицерин, фруктозу, триптофан, *n*-оксибензоат, *l*-аминобензоат, малонат и сукцинат (1 %).

Выделение пигмента осуществляли по схеме, предложенной в работе [7]. Феназиновый пигмент анализировали на жидкостном хроматографе с масс-спектрометрическим детектором LCMS-QP8000α (Shimadzu, Japan). Аликвоту