

оксидантного компонента на фоне менее выраженных общих повреждений. При воздействии ФКЖ *Fusarium* sp. на растения ячменя сортов Гонар и Дзивосны наблюдается индукция активности ферментов пероксидазного комплекса в клетках корневой системы. У растений сорта Сталы изменений пероксидазной активности не зарегистрировано. Отсутствие индукции пероксидазной активности в условиях воздействия стрессового фактора свидетельствует о повышенной устойчивости этого сорта к неблагоприятным условиям, показателями чего являются также меньший уровень ПОЛ и более высокое внутриклеточное содержание восстановленной формы глутатиона.

Установленные особенности ответной реакции растений ячменя *Hordeum vulgare* L. сортов Гонар, Дзивосны и Сталы при воздействии возбудителя корневой гнили из рода *Fusarium* sp. могут послужить основой для разработки подходов направленной селекции устойчивых к действию биотических стрессовых факторов форм растений.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Vaughn K. C., Lehnen L. P. // Weed. Sci. 1991. Vol. 39. P. 450.
2. Mittova V., Tal M., Volokita M., Guy M. // Plant Cell. Envir. 2003. Vol. 26. P. 845.
3. Wu F., Zhang G., Dominy P. // Environ. Exp. Bot. 2003. Vol. 50. P. 67.
4. Kaminska-Roïek E., Pukacki P. // Acta Physiol. Plant. 2004. Vol. 26. P. 431.
5. Kuzniak E., Skłodowska M. // J. Exp. Bot. 2004. Vol. 55. P. 605.
6. Gao X., Ren Z., Zhao Y., Zhang H. // Plant Physiol. 2003. Vol. 133. P. 1873.
7. Wojtaszek P. // Biochem. J. 1997. Vol. 322. P. 681.
8. Kovtun Y., Chiu W. L., Tena G., Sheen J. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2000. Vol. 97. P. 2940.
9. Овсянкина А. В. // Защита и карантин растений. 2004. № 8. С. 43.
10. Бояркин А. Н. // Биохимия. 1961. Т. 16. № 2. С. 252.
11. Ohkawa H., Ohish N., Yagi K. // Anal. Biochem. 1979. Vol. 95. P. 351.
12. Ellman G. L. // Arch. Biochem. Biophys. 1959. Vol. 82. P. 70.
13. Bradford M. M. // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248.
14. Барабой В. А. // Успехи совр. биол. 1991. Т. 111. Вып. 6. С. 923.
15. Vanacker H., Carver T. L. W., Foyer C. H. // Plant Physiol. 1998. Vol. 117. P. 1103.

Поступила в редакцию 08.10.12.

Юрий Иосифович Кожуро – кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики.

Евгения Анатольевна Семенчик – аспирант кафедры генетики. Научный руководитель – Н. П. Максимова.

Наталья Павловна Максимова – доктор биологических наук, профессор, заведующая кафедрой генетики.

УДК 579.64

Е. И. КОМАР, А. Г. ПЕСНЯКЕВИЧ

ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ГНИЛЕЙ КАРТОФЕЛЯ НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ

68 samples of various cultivars of potatoes (*Solanum tuberosum* L.) were under research. 275 bacterial strains were isolated from the soft rot tubers and macerated green stems collected in 2011–2012 years. The following criteria were applied to the bacteria isolates to distinguish pathogenic isolates from saprotrophic ones for further research: ability to cause rot of plant tissue, ability to cause reaction of hypersensitivity on *Vicia faba* leaves, ability to degradation of pectin substances, ability to hydrolyze of carboxymethylcellulose and proteins of milk. This resulted in a set of 70 bacteria isolates. These isolates were divided into 4 groups (with sub-groups) based on their morphological, physiological and biochemical characteristics. Bacteria of *Pectobacterium* genus (which traditionally considered as a cause of soft rot of potato on Belarus area) is the most spread pathogens nowadays. We found also that the cause of soft rot of potato in Belarus are gram-positive bacteria, similar to the *Bacillus pumilus* species according to physiological and biochemical tests and morphological characteristic, and the fluorescent pseudomonades.

Ключевые слова: картофель, хранение, мягкая гниль, фитопатогенные бактерии, *Bacillus pumilus*, флуоресцирующие псевдомонады, *Pectobacterium*.

Key words: potato, storage, soft rot, phytopathogenic bacteria, *Bacillus pumilus*, fluorescent pseudomonades, *Pectobacterium*.

Одной из основных культур в сельскохозяйственном производстве Беларуси является картофель. Повышение продуктивности картофелеводства в стране должно осуществляться комплексно и базироваться на использовании новых сортов, применении современных агротехнических приемов и совершенствовании мер защиты вегетирующих растений и собранного урожая от патогенов [1]. В последнее десятилетие отмечаются определенные положительные сдвиги в реализации первых двух направлений, однако проблема потерь урожая картофеля из-за распространения гнилей различной этиологии

не только остается, но и приобретает еще большую актуальность [1–3]. Одной из возможных причин этого является связанное с наблюдающимися в настоящее время климатическими сдвигами изменение видового состава возбудителей болезней растений, распространенных на конкретных территориях. Как отмечают специалисты в области защиты растений [2], в ряде стран умеренного пояса Северного полушария резко изменилась роль отдельных патогенов и их соотношение в агроэкосистемах. Кроме того, выбор защитных агротехнических приемов и особенности их применения в процессе культивирования, а также создание при хранении условий, препятствующих развитию и распространению гнилей клубней, в значительной мере определяются свойствами возбудителей конкретных заболеваний.

Основными возбудителями бактериальных заболеваний вегетирующих и хранящихся растений картофеля в Беларуси традиционно считаются представители родов *Pectobacterium* и *Clavibacter* [1, 3]. Хотя вызываемые ими поражения клубней и зеленых стеблей имеют характерные симптомы, в последние годы стало очевидным, что только визуальной оценки анализируемых повреждений явно недостаточно для установления причины заболеваний. С одной стороны, это является следствием введения в практику новых сортов картофеля, поражения которых названными возбудителями могут иметь несколько другое симптоматическое выражение, с другой – климатические изменения также могут влиять на характер поражения.

Особое внимание привлекают симптомы поражения клубней картофеля, находящихся на хранении, и существенные потери, определяемые развивающимися в условиях хранилищ гнилями. Одной из возможных причин ухудшения качества хранящегося картофеля является дополнительное инфицирование клубней в ходе механизированной уборки, послеуборочной доработки и транспортировки к местам хранения [2]. Следствием этого становится развитие гнилей смешанной этиологии, при которых выраженность определяемых каждым из возбудителей симптомов может существенно искажаться.

Все это в значительной степени затрудняет определение по результатам стандартного фитосанитарного надзора общей картины распространения возбудителей болезней картофеля по территории Республики Беларусь. С нашей точки зрения, необходимо проведение исследований видового состава возбудителей бактериозов картофеля, базирующихся на выделении и точной идентификации бактерий. Публикуемая статья отражает результаты начального этапа такой работы.

Материал и методика

Исследование проводилось на 68 образцах картофеля различных сортов (Универсал, Латона, Ветразь, Здабыток, Ласунок, Зарница, Скарб, Скарлет, Янка, Выток, Луговской, Криница, Атлант, Журавинка, Дельфин, Бриз) с симптомами поражения клубней и зеленых побегов, собранных в периоды вегетации, уборки и хранения клубней. Образцы были предоставлены сотрудниками РУП «Институт защиты растений» (Прилуки).

Определение патогенных свойств бактерий, а именно способности мацерировать растительные ткани и вызывать реакцию гиперчувствительности у растений *Vicia faba*, а также наличия пекто-, целлюло- и протеолитических активностей осуществляли согласно методикам, приведенным в [4].

Для изучения морфологических особенностей и физиолого-биохимических свойств бактерий использовали изложенные в работе [4] варианты стандартных методик для идентификации фитопатогенных микроорганизмов (окраска по методу Грама; определение грампринадлежности с раствором КОН, подвижности, наличия оксидазы, нитратредуктазы, уреазы, аргининдегидролазы, способности образования левана из сахарозы; выявление эндоспор, тест Хью-Лейфсона).

Результаты и их обсуждение

Из представленных для исследования пораженных стеблей и клубней картофеля были выделены 275 штаммов бактерий. Отбор штаммов для дальнейшего изучения проводили по способности мацерировать растительную ткань, вызывать реакцию гиперчувствительности, разжижать полипектатный гель, гидролизовать карбоксиметилцеллюлозу и белки молока. При наличии у изучаемых бактерий хотя бы одного из перечисленных свойств их оставляли для проведения родовой и видовой идентификации.

Результатом этого этапа исследований стал отбор 70 штаммов, что составило приблизительно четвертую часть выделенных из поврежденных тканей чистых культур. При этом следует отметить, что в 26 исследованных нами образцах выявить обладающие фитопатогенными свойствами бактерии не удалось. Объяснить наличие бактериальных фитопатогенов только в 62 % анализируемого материала можно несколькими причинами. Во-первых, следует учесть, что ряд фитопатогенных грибов вызывают гнилостные повреждения клубней, сходные с возникающими при инфицировании бактериями. Во-вторых, при развитии гнили любой этиологии по мере появления некротизированных участков поверхности клубня, как правило, происходит заселение сапротрофными микроорганизмами богатой углеводами и водой мертвой ткани. Это подтверждается выделением из большинства пораженных клубней, наряду с патогенами, бактерий, не обладающих патогенными свойствами, а также наличием роста сапротрофных мицелиальных грибов и актиномицетов при первичном высеве из пораженных гнилями

участков клубней. Во многих случаях вторично поселившиеся грибы и бактерии быстро размножаются и составляют конкуренцию патогену, препятствуя тем самым увеличению его численности. В пользу этого свидетельствует выявленная нами следующая закономерность: из образцов, представляющих собой почти полностью сгнивший клубень, патогены выделяются значительно реже или не выделяются совсем. Кроме того, вторичное заселение скрадывает проявление симптомов поражения, типичных для патогена. В силу этого мы рекомендуем при диагностике заболеваний выделять патогены из клубней с частичными повреждениями и максимально сохранившимся пробковым слоем.

Проведенные исследования ряда морфологических и физиолого-биохимических характеристик обладающих факторами патогенности бактерий позволили распределить выделенные штаммы на 4 группы, включающие несколько подгрупп. Деление на подгруппы связано либо с различиями в физиолого-биохимических характеристиках (табл. 1), либо с особенностями проявления патогенных свойств анализируемых штаммов (табл. 2).

Таблица 1

Физиолого-биохимические свойства бактерий, поражающих картофель на территории Беларуси

Группа штаммов	Подгруппа штаммов	Количество штаммов в группе	Анализируемый признак					
			Грампринадлежность	О/Ф-тест	Наличие активности			
					оксидазной	нитрат-редуктазной	аргининдегидролазной	уреазной
I	а	11	+	F	++	–	–	+
	б	8	+	F	++	–	–	–
II	а	5	–	F	–	++	–	–
	б	17	–	F	–	++	–	–
III	а	2	–	O	++	–	++	–
	б	1	–	O	++	++	++	–
IV	а	13	–	F	+	++	–	–
	б	9	–	F	–	++	–	–
	в	2	–	F	–	+	–	–
	г	1	–	нт	–	–	–	–

Примечание. Количество знаков «+» в столбцах, отражающих ферментативные активности, указывает на степень выражения анализируемого признака; F – ферментативное образование кислоты из глюкозы; O – окислительное образование кислоты из глюкозы; нт – признак не тестируется при использовании выбранной методики.

Бактерии 19 штаммов, вошедших в группу I, являются грамположительными подвижными спорообразующими палочками, что позволяет в сочетании с приведенными в табл. 1 признаками отнести их к роду *Bacillus*. Разделение этой группы на подгруппы обусловлено анализом данных, полученных при постановке теста на способность вызывать реакцию гиперчувствительности и в экспериментах по заражению картофеля (см. табл. 2). Бактерии подгруппы Ib, включающей 8 штаммов, при введении в листья *Vicia faba* не вызывают отмирания паренхимы по типу реакции гиперчувствительности, а активно мацерируя ткань, распространяются за пределы зоны введения, поражая со временем все растение. Фактически для бактерий этих штаммов бобы конские, как и картофель, являются растением-хозяином. Согласно публикациям последних лет [5–8] среди патогенов, распространенных в странах с высокими среднегодовыми температурами, стал проявлять себя ранее не относившийся к болезнетворным видам *Bacillus pumilus*. При этом хозяевами для данного вида оказываются растения, принадлежащие к различным семействам, в том числе и к сем. Бобовые [8]. В то же время имеются данные, указывающие на способность *Bacillus pumilus* поражать растения из сем. Пасленовые, в частности картофель [5]. На основании сопоставления морфологии клеток и колоний, физиолого-биохимических свойств и тестов на фитопатогенность с данными литературы мы относим штаммы этой подгруппы к виду *Bacillus pumilus*.

Таблица 2

Факторы патогенности бактерий, поражающих картофель на территории Беларуси

Группа штаммов	Подгруппа штаммов	Анализируемый признак				
		Наличие активности			Характер мацерации тканей клубня картофеля	Способность вызывать реакцию гиперчувствительности у <i>Vicia faba</i>
		пектолитической	целлюлолитической	протеолитической		
1	2	3	4	5	6	7
I	а	++	+	+	Свежемацерированная ткань бежевого цвета, на 2–3-и сут приобретает темно-коричневую окраску	++
	б	++	+	+	Мацерация осуществляется в 1-е сут с обильным выделением водянистого экссудата. На 2–3-и сут мацерированная ткань приобретает темно-коричневую окраску	–

1	2	3	4	5	6	7
II	a	++	+	+	Мацерация осуществляется в 1-е сут с обильным выделением водянистого или слизистого экссудата. Мацерированная ткань имеет темно-коричневую окраску	++
	б	+++	+	+	Мацерация осуществляется в 1-е сут, мацерированная ткань молочно-белого цвета	++
III	a	++	–	+	Мацерация проявляется на 2-е сут. Мацерированная ткань имеет желтоватый оттенок	–
	б	–	–	+	Мацерация проявляется на 3-и сут. Мацерированная ткань имеет желтоватый оттенок	++
IV	a	+	+	+	Мацерация проявляется на 3-и сут. Мацерированная ткань не отличается по окраске от здоровой, отчетливо наблюдается граница между пораженной и здоровой тканью	–
	б	–	–	+	Мацерация проявляется на 4-е сут. Мацерированная ткань имеет темно-коричневую окраску, отчетливо наблюдается граница между пораженной и здоровой тканью	++
	в	–	–	–	Признаки мацерации проявляются на 3-и сут. Свеже-мацерированная ткань имеет розовый оттенок	+
	г	–	–	+	Мацерация проявляется на 3-и сут. Мацерированная ткань имеет желто-оранжевую окраску	++

Примечание. Количество знаков «+» отражает степень выражения анализируемого признака.

Бактерии штаммов, составивших группы II, III и IV, являются грамотрицательными подвижными палочками. Как и ожидалось, значительную часть выделяемых из поврежденных гнилями клубней картофеля грамотрицательных бактерий составляют бактерии рода *Pectobacterium*. В наших исследованиях они входят в группу II. Разделение этой группы на две подгруппы, основанное на характере поражения тканей картофеля (см. табл. 2), скорее всего, отражает различия видового порядка, однако сделать вывод о принадлежности выделенных штаммов к видам *Pectobacterium carotovorum* или *Pectobacterium atrosepticum* на данном этапе исследований не представляется возможным.

Штаммы, вошедшие в группу III, обладают признаками, позволяющими отнести их к роду *Pseudomonas* (см. табл. 1). Отличительной чертой бактерий этих штаммов является способность образовывать флуоресцирующие пигменты, что придает мацерированной ткани клубня желтоватый оттенок (см. табл. 2). При их культивировании на средах с выраженным дефицитом ионов железа количество образуемого пигмента существенно увеличивается, что позволяет отнести штаммы данной группы к флуоресцирующим псевдомонадам. Основанием для разделения этих штаммов на две подгруппы являются различия по способности редуцировать нитраты (см. табл. 1), вызывать реакцию гиперчувствительности у *Vicia faba* и разжижать полипектатный гель. Необходимо также отметить, что бактерии подгруппы IIIб образуют леван на среде с сахарозой, а бактерии подгруппы IIIа не обладают такой способностью. Кроме того, штаммы различаются по скорости мацерации тканей клубней картофеля (см. табл. 2). Для видовой идентификации этих псевдомонад необходимы дополнительные эксперименты.

К группе IV нами отнесены штаммы, различающиеся по характеру мацерации тканей клубня картофеля, конкретный род которых на основе проведенных физиолого-биохимических тестов не был определен.

На данном этапе исследований нами также было проанализировано наличие гнилей смешанной этиологии. Из 42 образцов 16 оказались зараженными несколькими патогенами (табл. 3). Доля смешанных инфекций по отношению к моноинфекциям составляет 38 % от количества клубней и стеблей, из которых были выделены патогенные бактерии. Наиболее распространенными участниками гнилей смешанной этиологии можно назвать представителей рода *Pectobacterium*, относящихся к подгруппе IIб. Они встречаются в 10 образцах из 16 пораженных смешанными инфекциями в сочетании как с грамположительными, так и с грамотрицательными бактериями. Штаммы данной группы были выделены из 17 пораженных клубней, при этом из 10 клубней в сочетании с другими патогенами. Штаммы подгруппы IVб в семи случаях из девяти встречаются вместе с другими бактериями и чаще всего с представителями рода *Pectobacterium*, грамположительные бактерии рода *Bacillus*, которые относятся к группе I, – в гнилях смешанной этиологии как в сочетании друг с другом, так и с грамотрицательными бактериями.

Характеристика смешанной инфекции клубней картофеля на территории Беларуси

Сочетание штаммов различных подгрупп	№ образца (сорт картофеля)
Ia; Ib; IVb	21 (Янка)
Ib; IVa; IIa	11 (Зарница гигант)
Ia; IVa	12 (Скарлет гигант)
IIa; IVb	65 (Атлант)
Ia; IIb	19 (Выток), 68 (Скарб)
IVa; IIb	30 (Скарб)
IIIa; IIb	67 (Атлант)
IIb; IVb	22 (Янка), 26 (Криница), 34 (Скарб)
IVa; IIb; IVb	37 (Криница)
Ia; IIb; IVb	35 (Криница)
IVa; IIa; IIb	13 (Янка)
IIa; IVb	38 (Скарб)
Ib; IVb	63 (Бриз)

Среди представленных нам образцов в большей степени подверженными смешанным инфекциям оказались сорта Янка (3 образца из 4 представленных), Скарб (4 из 9), Криница (3 из 4), Атлант (2 случая смешанных инфекций из 4).

Подводя итог проведенному этапу исследований, необходимо отметить следующее. Бактерии рода *Pectobacterium*, традиционно считающиеся причиной гнилостного повреждения картофеля на территории Беларуси, остаются наиболее распространенными патогенами и в настоящее время. В то же время нами были отмечены как патогены картофеля грамположительные бактерии из рода *Bacillus*, сходные по основным физиолого-биохимическим тестам и морфологическим характеристикам с *Bacillus pumilus*, а также представители флуоресцирующих псевдомонад, отличающиеся от ранее выявляемых на территории Беларуси.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Иванюк В. Г., Банадысев С. А., Журомский Г. К. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков. Минск, 2005.
2. Турко С. А., Ильяшенко Д. А., Иванюк В. Г., Калач В. И. Рекомендации по защите картофеля от клубневых гнилей во время хранения. Самохваловичи, 2010.
3. Иванюк В. Г., Банадысев С. А., Журомский Г. К. Защита картофеля от болезней, вредителей и сорняков. Минск, 2003.
4. Желдакова Р. А., Мямин В. Е. Фитопатогенные микроорганизмы. Минск, 2006.
5. Bathily H., Babana A. H., Samake F. // African J. of Microbiology Research. 2010. Vol. 4. № 20. P. 2067.
6. Saleh O. I., Huang P. Y., Huang J. S. // J. Phytopathology. 1997. № 145. P. 447.
7. Galal A. A., El-Bana A. A., Janse J. // Egypt J. Phytopathology. 2006. Vol. 34. № 1. P. 17.
8. Font M. I., Bassimba D. D. M., Serbian M. C. et al. // New Disease Reports. 2009. № 19. P. 54.

Поступила в редакцию 20.11.12.

Елена Ивановна Комар – аспирант кафедры микробиологии. Научный руководитель – А. Г. Песнякевич.
Александр Георгиевич Песнякевич – кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии.

УДК 581.95(476)-542.11

М. А. ДЖУС

КОВЫЛЬ ВОЛОСОВИДНЫЙ (*STIPA CAPILLATA* L., РОАСЕАЕ) – НОВЫЙ АДВЕНТИВНЫЙ ВИД ФЛОРЫ БЕЛАРУСИ

The first record of the Needle-grass (*Stipa pennata*) for the flora of Belarus belongs to 1830 and applies to the territory of the former Minsk province. A little later in 1857 two species *Stipa pennata* and *S. capillata* are indicated without precise localities for the former Mogilev province. All these data are not confirmed by herbarium specimens and seems to be erroneous. Other literature sources belong only to the cultivated species. Since 1929, at least 12 species from 6 sections are cultivated in botanical gardens: *Stipa capillata* L., *S. caspica* K. Koch, *S. caucasica* Schmalh., *S. extremiorientalis* Hara, *S. lessingiana* Trin. et Rupr., *S. pellita* (Trin. et Rupr.) Tzvelev, *S. pennata* L., *S. pulcherrima* K. Koch, *S. sareptana* Beck, *S. sibirica* (L.) Lam., *S. tenacissima* L., *S. ucrainica* P. A. Smirn. In this article, European needle-grass – *Stipa capillata* is reported as alien species for the flora of Belarus for the first time. It was discovered in 2010 in the south-eastern part of the country in the Rogatchev province (Gomel region). A morphological description of the species, short characteristic of the new locality and total distribution are provided. In the discovered locality *Stipa capillata* occurred most likely