

Штаммы	Удельная активность, мкмоль (мин·мг) белка	
	триптофан-аминотрансферазы	индолпируват-декарбоксилазы
Дикий тип	3±0,5	8,6±1,0
PM9-40	25±2,5	70±10,0

УДК 582.926.2:632.25

М.А. СТАДНИЧЕНКО

### **РАЗРАБОТКА СПОСОБА ОЦЕНКИ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ТОМАТА НА ФОНЕ ТОКСИЧНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ СЕРОЙ ГНИЛИ**

The ability of the fungus *Botrytis cinerea* Pers. (a gray-mold rot agent) to produce toxic metabolites in liquids and to influence of tomato seed and pollen growth processes have been studied. The possibility of tomato plants botrytis-resistance diagnostics has been experimentally proved on the basis of the reaction of gametophyte (pollen) and sporophyte (seed) to the pathogen impact.

Наряду с морфологической структурой популяций фитопатогенных грибов большой интерес представляет изучение продуктов метаболизма патогенов. Исследования действия токсичных метаболитов возбудителей на спорофит и

гаметофит дают возможность наблюдать динамику развития гриба, более глубоко понять процессы взаимодействия патогена и растения, отслеживать изменения в патосистеме и в конечном счете отбирать устойчивые к ним формы сельскохозяйственных культур [1]. В настоящее время использование неспецифических токсинов возбудителей болезней широко используются в селекции различных культур на устойчивость к абиотическим и биотическим факторам среды [2-5]. Разработка приемов селекции без применения инфекционных фонов является весьма актуальной. Оценка уровня устойчивости исследуемого материала в естественных условиях часто невыполнима, так как необходимо, чтобы экстремальный фактор среды проявлялся тогда, когда растения находятся в определенном периоде развития [6, 7]. Одним из возможных путей ускорения селекционного процесса на устойчивость пасленовых культур к биотическим факторам среды, в том числе и к серой гнили, может быть разработка и дальнейшее практическое использование селекции по гаметофиту и спорофиту.

Перед нами стояла задача обосновать целесообразность применения продуктов метаболизма гриба *Botrytis cinerea* Pers. для отбора устойчивых форм томата. В связи с ростом вредоносности патогена, отсутствием специализированного генетического барьера к ботритиозу пасленовых культур в этой патосистеме возможен отбор лишь относительно устойчивых генотипов, поэтому разработка метода отбора устойчивых форм с использованием всего комплекса токсичных метаболитов особенно актуальна. Возбудитель серой гнили способен образовывать в жидкой среде комплекс токсичных метаболитов, влияющих на развитие семян и пыльцы, а также принимающих участие в патогенезе [8].

#### Материал и методика

Материалом для исследований служили изоляты возбудителя серой гнили, выделенные из пораженных растений перца и томата с использованием общепринятых в микологии и фитопатологии методик [9], объектами исследования - 9 гибридов F<sub>1</sub> и 16 сортов образцов томата. Культуральную жидкость получали путем выращивания гриба *B. cinerea* на жидкой среде Чапека. После 5, 10, 15 и 20 сут инкубации при комнатной температуре (20-22 °С) культуральную жидкость отфильтровывали и получали фильтрат токсичных метаболитов. При анализе реакции спорофита томата на действие метаболитов гриба учитывали процент прорастания обработанных культуральной жидкостью (КЖ) семян и рост главного корешка, при гаметофитном отборе - жизнеспособность пыльцы и рост пыльцевых трубок. Семена опытных вариантов помещали в чашки Петри на фильтровальную бумагу, смоченную токсичным фильтратом. В контрольном варианте фильтровальную бумагу увлажняли дистиллированной водой. Через 5 сут измеряли длину корешков и проростков. Пыльцу проращивали методом множественных капель на питательной среде, включающей 20 % сахарозы и 0,0006 % борной кислоты в дистиллированной воде, в опытные варианты вносили токсичный препарат в концентрации 1:10 и 1:20 (оптимальная среда : токсичный агент). Инкубацию пыльцы проводили при 25 °С в течение 20 ч [10]. Длину пыльцевых трубок измеряли с помощью окуляра-микрометра у 100 проросших пыльцевых зерен в каждом варианте опыта. О влиянии экстракта метаболитов на пыльцу томата судили по степени угнетения жизнеспособности пыльцы и пыльцевых трубок по сравнению с контрольным вариантом.

#### Результаты и их обсуждение

Диагностика влияния культурального фильтрата изолятов гриба *B. cinerea* на первоначальные этапы развития семян и жизнеспособность пыльцы томатов сортов Ружа и Перемога 165 показала, что популяция *B. cinerea* полиморфна по признаку токсинообразования, а метаболиты возбудителя ботритиоза оказывают избирательное ингибирующее действие на спорофит и мужской гаметофит томата [11]. Выделенные изоляты с относительно высоким уров-

## Биология

нем токсического действия были использованы в дальнейшем как возможный фактор отбора болезнеустойчивых форм. Отмечена различная реакция сортов томата на метаболиты патогена: так, в среднем процент проросших пыльцевых зерен томата сорта Ружа был больше, чем у томата сорта Перамога 165, т. е. можно предположить, что сорт Ружа относительно более устойчив к возбудителю серой гнили.

Степень фитотоксичности возбудителя серой гнили в зависимости от продолжительности культивирования нами была изучена на влиянии 5-, 10- и 20-суточных фильтратов КЖ на семена томата сорта Персей. Результаты показали, что наибольшее накопление токсичных метаболитов происходило при культивировании изолята в течение 5-10 сут, о чем

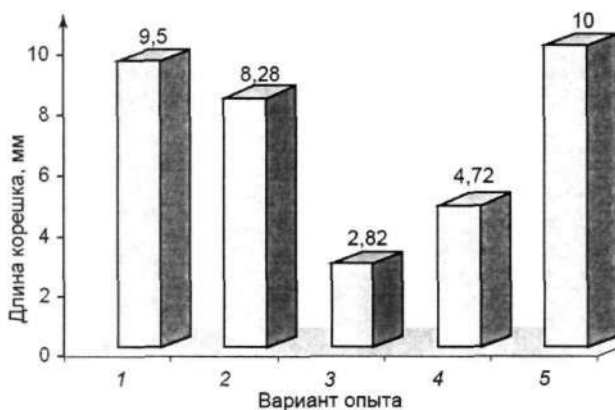


Рис. 1. Влияние комплекса метаболитов гриба *B. cinerea* различных сроков культивирования на формирование корешка томата сорта Персей: 1 – вода, 2 – среда Чапека, 3, 4, 5 – культуральная жидкость 5-, 10- и 20-суточная соответственно

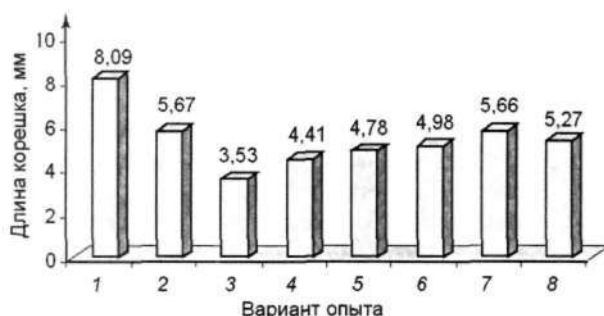


Рис. 2. Влияние комплекса метаболитов гриба *B. cinerea* с различной первичной инфекционной нагрузкой на рост корешка томата сорта Персей:

1 – вода, 2 – среда Чапека, концентрация культуральной жидкости: 3 – 20÷30, 4 – 50÷60, 5 – 80÷90, 6 – 110÷120, 7 – 140÷150, 8 – 170÷180, 10<sup>-4</sup> спор/мл

Таблица 1

### Влияние комплекса метаболитов возбудителя серой гнили на прорастание семян томатов

Сорт	Вода		15-суточная КЖ гриба <i>B. cinerea</i>	
	Проросшие семена, %	Длина корешка, мм	Проросшие семена, %	Длина корешка, мм
Розовый гигант	49	10,273±6,980	35	6,441±4,155
Силач	98	37,195±11,418	91,5	21,276±6,625
Луна	37	<b>6,784±3,959</b>	28	<b>5,640±3,725</b>
Елена	81	14,902±8,763	69	8,388±4,242
Ранний-310	94	<b>37,488±12,360</b>	93	<b>18,039±7,621</b>
Лиана желтая	21	4,714±3,573	28,5	3,191±2,377
Талалихин	66	14,474±8,797	56	8,681±5,260
Ляна	86	27,770±14,087	79,5	20,063±9,236
Поранек	64	27,154±8,496	64	17,625±8,549
Этап	24	<b>6,167±3,743</b>	27	<b>7,042±4,173</b>
Sweet-100	56	10,087±6,131	47	5,993±3,130
Вежа	73	20,480±11,449	54	12,551±7,526
Доходный	82	<b>39,558±13,867</b>	81,5	<b>19,055±5,532</b>

Примечание. Здесь и в табл. 2 шрифтом выделены образцы, устойчивые к возбудителю серой гнили, чертой – восприимчивые.

**Реакция пыльцы различных образцов томатов на воздействие комплекса токсичных метаболитов возбудителя серой гнили**

Гибрид F <sub>1</sub>	Жизнеспособность пыльцы, % к контролю	Длина пыльцевых трубок, % к контролю
Фортуна	107,7	56,0
Лоридана	<b>92,3</b>	<b>95,8</b>
Раисса	126,3	49,7
Эмоушн	105,1	45,5
Барселона	<b>131,1</b>	<b>60,0</b>
Радикал	86,2	50,9
№ 72503	105,4	46,9
Агденис	107,0	51,6
Агденис-2	<b>41,2</b>	<b>40,6</b>

свидетельствует статистически достоверное ингибирование роста корешка через 5 сут. При 20-суточном культивировании токсической активности культурального фильтрата гриба не наблюдали (рис. 1). Изучение влияния культуральных жидкостей на ростовые процессы семян томата показало, что 15-20-суточные фильтраты слабо воздействуют на рост корешков и проростков. Для диагностики устойчивости образцов томата по спорофиту можно рекомендовать использование 10-15-суточные фильтраты.

Нами также была отмечена способность изолятов проявлять разную степень фитотоксичности в зависимости от концентрации споровой суспензии, использованной для первичного посева в среду. Изучали действие фильтрата КЖ различной концентрации (рис. 2). Максимальный ингибирующий эффект на прорастание семян томата сорта Персей выявлен при минимальной концентрации спор (20-30, 10<sup>-4</sup> спор/мл). С ее увеличением степень ингибирования уменьшалась. Взвешивание мицелиальной массы после отфильтровывания культуральной жидкости гриба показало, что с ростом концентрации спор в среде уменьшается масса мицелия, т. е. происходит взаимное ингибирование прорастания спор при высокой концентрации споровой суспензии.

Таким образом, при изучении влияния фильтрата КЖ на прорастание семян выявлено, что ингибирование начального роста корешка происходило на 5-й день прорастания семян при 5-суточном культивировании высокоагрессивного изолята на жидкой среде и при концентрации 20÷30, 10<sup>-4</sup> спор/мл.

Действие культурального фильтрата на ростовые процессы томатов различных сортов открытого грунта заключалось в дифференцированном ингибирующем влиянии на прорастание семян томата. Показатели по длине корешка сортов Ранний-310 и Доходный в опыте были в два раза ниже, чем в контроле, что свидетельствует о восприимчивости данных сортов к серой гнили (табл. 1). К устойчивым можно отнести сорта Луна и Этап, так как их показатели длины корешков в опытных вариантах были приблизительно равны или выше контроля.

Одной из задач проведенных исследований был отбор образцов томатов по признаку устойчивости к ботритиозу гаплоидного поколения - мужского гаметофита, или пыльцы к метаболитам гриба. В результате оценки жизнеспособности пыльцы различных образцов томата для закрытого грунта выявлена неоднозначность их реакции на культуральный фильтрат. В опытном варианте существенное снижение жизнеспособности пыльцы наблюдали у сорта Агденис-2, где прорастание пыльцы было ниже контрольного на 58,8 % (табл. 2). По длине пыльцевых трубок отмечена та же тенденция: их длина по всем образцам была ниже контроля в среднем на 40-50 %. Следует отметить, что отбор более устойчивых образцов целесообразнее проводить по ростовым процессам [3]. Исходя из длины пыльцевых трубок, изученные образцы

можно охарактеризовать следующим образом: относительно устойчивыми являются сорта Лоридана и Барселона, остальные слабо- или среднеустойчивые.

На основании полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1) изолятам возбудителя серой гнили присущ полиморфизм по признаку токсинообразования;

2) культуральные жидкости гриба *B. cinerea* обладают фитотоксичностью по отношению к томату;

3) токсичность культуральной жидкости изменяется в зависимости от сроков культивирования и концентрации споровой суспензии;

4) комплекс токсичных метаболитов возбудителя ботритиоза оказывает избирательное ингибирование на прорастание семян и пыльцы различных образцов томата;

5) данные позволяют использовать воздействие метаболитов гриба *B. cinerea* на спорофит (семена) и мужской гаметофит (пыльцу) для оценки селекционного материала по уровню ботритиозоустойчивости.

1. Поликсенова В.Д., Пискун С.Г., Анохина В.С. и др. // Эколого-экономические основы усовершенствования интегрированных систем защиты растений от вредителей, болезней и сорняков: Тез. докл. науч.-произв. конф.: в 2 ч. Мн., 1996. Ч. 2. С. 52.

2. Валько О.В., Поликсенова В.Д., Анохина В.С., Тимошенко М.К. // Овощеводство на рубеже третьего тысячелетия: Материалы междунар. науч. конф. Мн., 2000. С. 119.

3. Пискун С.Г., Поликсенова В.Д., Анохина В.С., Тимошенко М.К. // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 1998. № 1. С. 51.

4. Лях В.А., Сорока А.И. // Сельскохозяйственная биология. 1993. № 3. С. 38.

5. Мелиян Л.Г., Балашова Н.И. // Сельскохозяйственная биология. 1994. № 1. С. 121.

6. Анохина В.С., Тимошенко М.К., Саук И.Б., Тарануха Г.И. // Сельскохозяйственная биотехнология: Материалы междунар. науч.-практ. конф. Горки, 2001. С. 125.

7. Кильчевский А.В., Анохина В.С., Тимошенко М.К. и др. // Там же. С. 179.

8. Лихачев А.Н., Пальмова Н.П., Гоголева И. Н. // Микология и фитопатология. 1998. Т. 32. Вып. 6. С. 52.

9. Билай В. И., Курбацкая З.И. Определитель токсинообразующих микромицетов. Киев, 1990.

10. Методические указания по гаметной селекции сельскохозяйственных культур (методология, результаты и перспективы). М., 2001.

11. Стадниченко М.А., Поликсенова В.Д. // Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 2. № 2. 2005. С. 62.

Поступила в редакцию 28.02.06.

**Марина Алексеевна Стадниченко** - аспирант кафедры ботаники. Научный руководитель - кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, заведующая кафедрой ботаники В.Д. Поликсенова.