

УДК 579.887:633.12

ВИЯВЛЕННЯ, ПОШИРЕННЯ ТА ШКОДОЧИНІСТЬ МІКОПЛАЗМОЗУ ГРЕЧКИ

В. К. Шевчук¹, О. А. Демченко^{2,4}, Л. В. Юзвенко²,
В. Г. Радченко⁴, А. Л. Бойко³

¹Подільський державний аграрно-технічний університет
вул. Шевченка, 13; м. Кам'янець-Подільський, Хмельницька обл., 32300, Україна

²Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України
вул. Академіка Заболотного, 154; м. Київ, МСП, Д03680, Україна

³Київський національний університет імені Тараса Шевченка
вул. Володимирська, 60; м. Київ, 01601, Україна

⁴Інститут еволюційної екології НАН України
вул. Академіка Лебедева, 37; м. Київ, 03143, Україна

e-mail: spivak-spivak-n@ya.ru

У статті вперше представлено результати досліджень щодо поширення і впливу фітоплазм на ріст і розвиток рослин гречки. Проведені електронно-мікроскопічне дослідження фітоплазм, встановлена можливість змішаної інфекції, що дозволяє в подальшому проводити цілеспрямовані пошуки та розробку заходів боротьби з цим патогеном.

Ключові слова: рослини гречки, фітоплазма, змішана інфекція.

Мікоплазматичні захворювання рослин широко поширені у всьому світі. Відома велика кількість фітоплазм, які належать до більш ніж 30 груп і є збудниками хвороб, що уражують більш ніж 200 видів рослин. Довгий час вважалося, що їх викликають віруси, хоча збудники не були виділені або візуалізовані. У 1967 р. японські вчені [1] в ультратонких зрізах флоєми рослин айстри, хворих жовтяницею, виявили структури, морфологічно подібні з патогенами тварин — мікоплазмами. Ці нові збудники хвороб рослин були названі мікоплазмоподібними організмами та віднесені до класу *Mollicutes*, тобто бактерій, позбавлених клітинної стінки.

На початку 90-х років минулого століття на підставі філогенетичного аналізу послідовностей ДНК цих організмів показано, що вони являють собою велику монофелітичну (тобто яка походить від одного предка) групу в межах класу *Mollicutes* і для них було запропоновано назву «фітоплазми». Іншими представниками цього класу були мікоплазми, ахлеплазми і спіроплазми, найбільш близькі до таких бактерій, як *Bacillus*, *Clostridium*, *Streptococcus*. Нинішня тривіальна

назва «фітоплазми» офіційно прийнята в 1994 р. на 10-му конгресі міжнародної організації мікоплазмологів на заміну терміну «мікоплазмоподібні організми» [2]. Сьогодні фітоплазми виділено в окремий рід «*Candidates Phytoplasma*». Категорія *Candidates* стала використовуватися для позначення організмів, які не можна вирощувати *in vitro*. Перші 20 видів *Candidates* віднесені до цього роду на підставі того, що ідентичність нуклеотидної послідовності ДНК гену 16S рРНК складала не менше 97,5 % [3].

Ці патогени добре ідентифікуються в трансмісивній та скануючій електронній мікроскопії. Так, при вивченні гомогенатів та ультратонких зрізів клітин досліджено фітоплазми пшениці та хмелю [4].

Фітоплазми викликають захворювання економічно важливих культур, у тому числі гречки — цінної круп'яної культури. Її плоди містять 12–18 % білка, 2–4 % жиру, 70–85 % крохмалю. За поживністю, смаковими і дієтичними властивостями крупа гречки є одним із важливих продовольчих продуктів, які використовуються в кулінарії для приготування різних страв [5]. Крім того, гречка є

багатим медоносом.

Одним із обмежуючих факторів отримання високих урожаїв гречки є ураженість хворобами. Ураженість гречки фітоплазмою належить до мало вивчених хвороб і вперше виявлена С. Ф. Сидоровою у 1965 р. При цьому не було візуалізовано цього збудника [6].

Мета наших досліджень — вивчення особливостей поширення збудника цієї хвороби та дослідження його морфологічних ознак.

Матеріали і методи. Для виявлення фітоплазми гречки проводили маршрутні обстеження посівів та стаціонарних дослідів з гречкою. Шкодочинність мікоплазмозу гречки визначали шляхом порівняння елементів морфобіометричних показників хворих і здорових рослин.

Для доказу патогенності збудника фітоплазми гречки використовували візуальну діагностику, метод щеплення хворої рослини на рослину-індикатор (барвінок рожевий *Catharanthus roseus* G. Don). Зараження здійснювали методом щеплення в розщеп. Спостереження проводили протягом місяця.

З метою візуалізації та визначення локалізації патогена проводили електронномікроскопічні дослідження. Контрастування проводили за використання ураніл ацетату та фосфорно-вольфрамової кислоти (ФВК).

Для дослідження змішаної інфекції у рослин гречки (мікоплазми, гриби, віруси, бактерії) використовували загальноприйняті методи виявлення патогенів [7].

Результати та їх обговорення. Згідно літературних даних відомо більше 200 видів рослин із 59 родин, які уражуються фітоплазмами. Поширюються фітоплазми переважно в зонах з помірним і теплим кліматом, який сприятливий для розвитку комах з колючо-сисним апаратом — переносників патогена. Фітоплазми переносяться від рослини до рослини комахами з класу *Hemiptera*, які мають колючо-сисний ротовий апарат і живляться соком клітин флоєми. Серед них найчастіше зустрічаються комахи родин *Cicadelloidea*, *Fulgoroidea* і *Psylloidea*. Деякі види комах можуть переносити кілька видів фітоплазм, але для багатьох фітоплазм все ще не визначено основних переносників [8]. У Росії як переносників фітоплазми відмічено такі види цикадок: *Hyalesthes obsoletus*, *Macrosteles la-*

evis, *Phyllaenus spumarius*, *Cicadella viridis*, *Pentastiridius leporinus*, *Aphrodes bicinctus* [9; 10].

Різноманіття симптомів найчастіше пов'язане з ураженням рослин фітоплазмами в комплексі з іншими патогенами (вірусами, бактеріями), а також з дією абіотичних факторів. Так, симптоми хвороб, названих жовтяницями, подібні у рослин, інфікованих вірусами і фітоплазмами. Поява симптомів на рослинах залежить від концентрації патогена в провідних тканинах, деструктивних змін у клітинних структурах і порушення балансу рослинних гормонів. При первинному зараженні рослин поява симптомів може спостерігатися через один і навіть декількох місяців залежно від виду і сорту культурних рослин, погодних умов та інших факторів.

При ураженні мікоплазмами рослин гречки спостерігається порушення процесів регуляції, змінюється габітус рослин, зменшується розмір листя, затримується ріст рослин, спостерігаються морфологічні зміни генеративних органів, що призводить до безплідності рослин. Пелюстки квіток приймають форму листя, призупиняється цвітіння. Спостерігається зростання маточок і тичинок, позеленіння квіток (рис. 1).

Умовно форми прояву симптомів можна розділити на кілька типів: жовтяниці, «відьміні мітли», карликовість, в'янення (вілт) [11]. Для репродуктивних органів рослин, інфікованих фітоплазмами, характерні такі симптоми як розростання чашелистників, посвітління пелюсток квіток, редукція і позеленіння пелюсток (віресценція), недорозвинення або гіперрозвинення тичинок і маточок — все це може призводити до часткового або повного безпліддя рослин [10; 12; 13].

З метою доказу патогенності проводили штучне зараження індикаторних рослин *Catharanthus roseus*. Після щеплення черешка хворої рослини гречки на рослину барвінку рожевого проводили спостереження за інфікованою рослиною.

У результаті виявлено деформацію квіток, позеленіння пелюсток *Catharanthus roseus* (рис. 2).

У ході досліджень отримано електронномікроскопічне зображення мікоплазми (рис. 3). Фітоплазми, як і віруси, характеризуються малими розмірами (від 200 до



а



б

Рис. 1. Мікоплазмоз рослин гречки: а — здорова рослина; б — рослина, уражена мікоплазмою.

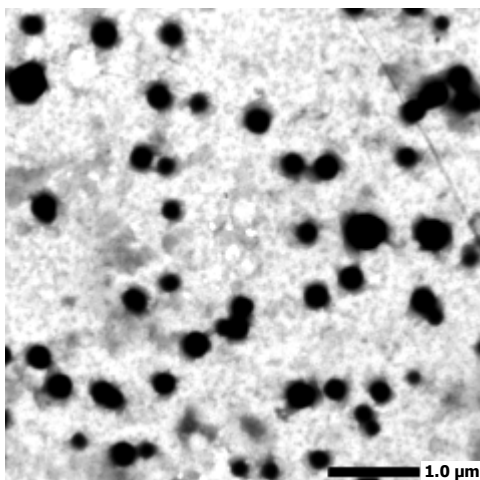


а

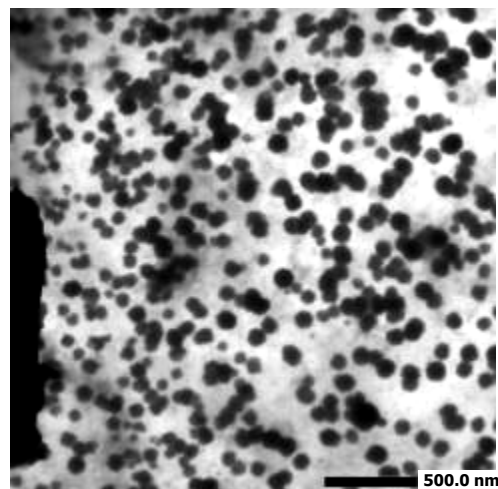


б

Рис. 2. Мікоплазмоз рослин *Cathartus roseus*: а — здорова рослина; б — рослина, штучно уражена мікоплазмою.



а



б

Рис. 3. Електронномікроскопічне зображення фітоплазм: а — препарати виготовлені з допомогою контрастування ураніл ацетатом; б — контрастування препарату за допомогою ФВК.

1000 нм) і володіють геномом розміром від 530 до 1350 kb з низьким вмістом GC пар в ДНК. Це найменший серед відомих геномів самореплікуючих організмів [5; 13; 14]. На відміну від бактерій, фітоплазми не мають клітинної стінки, а оточені тришаровою цитоплазматичною мембраною. За формою фітоплазми являють собою плеоморфні, округлі або ниткоподібні утворення діаметром менше 1 мкм, які можна спостерігати у флоемі інфікованих рослин за використання електронного мікроскопа.

У зимовий період фітоплазми можуть зберігатися в тілі комах-переносників і в багаторічних рослинах, які служать постійним джерелом інфекції. Вегетативні органи од-

норічних рослин (бульби) також іноді можуть зберігати інфекцію. Фітоплазми пов'язані з природними вогнищами, в яких постійно є дикорослі рослини [11]. Циркуляція патогена здійснюється за допомогою комах-переносників, а культурні рослини уражаються ними при вирощуванні в зоні вогнища. Резерваторами фітоплазми служать багато дикорослих видів, з яких найбільш поширені берізка польова, цикорій, осот польовий [15]. Нами також виявлено змішану інфекцію на рослинах гречки.

На рис. 4 представлено результати досліджень щодо поширення змішаних інфекцій фітоплазми гречки з бактеріями та фітовірусами.

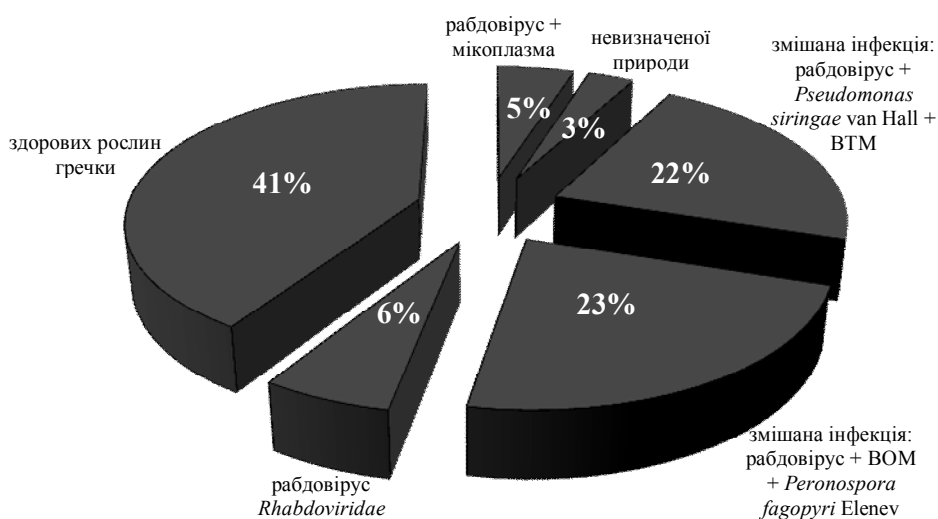


Рис. 4. Розповсюдження мікоплазм на посівах гречки у Лісостеповій екологічній ніші (змішана інфекція): BTM — вірус томатної мозаїки, BOM — вірус огіркової мозаїки.

Отже, в результаті аналізу хворих рослин гречки нами виявлено та ідентифіковано фітоплазми (мікоплазми), що дозволяє в подальшому проводити цілеспрямовані дослідження і розробку заходів боротьби з цим патогеном.

1. Mycoplasma or PLT group-like microorganisms found in the phloem elements of plants infected with mulberry dwarf, potato witches'-broom, aster yellows, or paulownia witches' broom / Doi Y., Teranaka M., Yora K., Asuyama H. // Annals of phytopathological society Japan. — 1967. — Vol. 33. — P. 259–266.

2. Prospects of DNA-based systems for differentiation and classification of phytoplasmas / [Lee I.-M., Zhao Y., Davis R. E. et al.] // Bulletin of insectology. — 2007. — Vol. 60, № 2. — P. 239–244.

3. Phytoplasma: methods and protocols. Methods in molecular biology / Dickinson M., Hodgetts J (eds.). — Vol. 938. — Humana Press, 2013. — 421 p.

4. Бойко А. Л. Вірусологія в електроннографіях / А. Л. Бойко, М. М. Зарицький, Ф. І. Товкач. — К. : ДІА, 2012. — 54 с.

5. Культура гречихи : в 3 ч. / Е. С. Алексеева, И. Н. Елагин, Л. К. Тараненко [и др.]. — Каменец-Подольский : изд. Мошак М. И., 2005. — Ч. 2 : Селекция и семеноводство гречихи. — 240 с.

6. Сидорова С. Ф. Изучение наиболее вредных болезней гречихи : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук / С. Ф. Сидорова. — Л., 1965. — 24 с

7. Бойко А. Л. Основи екології та біофізики вірусів / Бойко А. Л. — К. : Фітосоціоцентр, 2003. — 164 с.

8. Diverse targets of phytoplasma effectors: from plant development to defense against insects /

[Sugio A., MacLean A. M., Kingdom H. N. et al.] // Annu. rev. phytopathol. — 2011. — Vol. 49. — P. 175–195.

9. Богоутдинов Д. З. Фитоплазмы картофеля и методы их изучения : науч.-метод. пособие / Богоутдинов Д. З. — Самара : Самарская ГСХА, 2000. — 35 с.

10. Богоутдинов Д. З. Эволюционные аспекты природной очаговости фитоплазмозов / Богоутдинов Д. З. // Профессор Юрий Ильич Власов, 1929–2000. Научная, педагогическая и общественная деятельность. Проблемы сельскохозяйственной вирусологии в работах его учеников. — СПб : ВИЗР, 2006. — С. 44–51.

11. Методика определения фитоплазм с использованием молекулярных методов диагностики: ПЦР и ПДРФ / под ред. Можяевой К. А. — М. : Россельхозакадемия, 2013. — С. 23.

12. Lee I.-M. Phitoplasma: phytopathogenic Mollicutes / Lee I.-M., Davis R. E., Gundersen-Rindal D. E. // Annu. rev. microbiol. — 2000. — Vol. 54. — P. 221–255.

13. Bertaccini A. Phytoplasma and phytoplasma disease: a review of recent research / Bertaccini A., Duduk B. // Phytopathologia mediterranea. — 2009. — Vol. 48. — P. 355–378.

14. Phytoplasmas and their interactions with hosts / Christensen N. M., Axelsen K. B., Nicolaisen M., Schulz A. // TRENDS in plant science. — 2005. — Vol. 10, № 11. — P. 526–535.

15. Шевчук В. К. Хвороби культивованих видів рослин Національного природного парку «Подільські товтри» : монографія / В. К. Шевчук. — Кам'янець-Подільський : вид. Зволейко Д. Г., 2008. — 56 с.

ВЫЯВЛЕНИЕ, РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ВРЕДНОСТЬ МИКОПЛАЗМОЗА ГРЕЧИХИ

В. К. Шевчук¹, А. А. Демченко^{2,4},
Л. В. Юзвенко², В. Г. Радченко⁴,
А. Л. Бойко³

¹Подольский государственный аграрно-технический университет, г. Каменец-Подольский

²Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины, г. Киев

³Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, г. Киев

⁴Институт эволюционной экологии НАН Украины, г. Киев

В статье впервые представлены результаты исследований по распространению и влиянию фитоплазмы на рост и развитие растений гречихи. Проведены электронно-микроскопические исследования фитоплазмы, установлена возможность смешанной инфекции, что позволяет в дальнейшем проводить целенаправленные поиски и разработку мер борьбы с этим патогеном.

Ключевые слова: растения гречихи, фитоплазмы, смешанная инфекция.

IDENTIFICATION, SPREAD AND HARMFULNESS OF BUCKWHEAT MYCOPLASMOSIS

V. K. Shevchuk¹, O. A. Demchenko^{2,4},
L. V. Yuzvenko², V. G. Radchenko⁴,
A. L. Boyko³

¹Podillya state agrarian technical university, Kamyansky-Podilsky

²Danylo Zabolotny Institute of microbiology and virology, NASU, Kyiv

³Taras Shevchenko National university of Kyiv, Kyiv

⁴Institute for evolutionary ecology, NASU, Kyiv

The paper presents the results of studies of spread and impact of Phytoplasma on the growth of buckwheat plants. Electron microscopic studies of Phytoplasma were conducted. The images of Phytoplasma established the possibility of a mixed infection, allowing further conduct targeted research and development of methods to combat this pathogen.

Key words: buckwheat plant, Phytoplasma, mixed infection.