[1]**Д. З. Богоутдинов**, доцент, к.б.н.
[2]**Н. В. Гирсова**, снс, к.б.н.
[2]**Т. Б. Кастальева**, внс, к.б.н.
[1]ФГБОУ ВО «Самарский государственный аграрный университет»
Россия, Самарская область, пгт. Усть-Кинельский
[2]ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии»,
Россия, Московская область, рп. Большие Вязёмы
kastalyeva@yandex.ru

УДК 632.3:634.1:634.7 DOI 10.31676/2073-4948-2019-59-212-218

ФИТОПЛАЗМЕННЫЕ БОЛЕЗНИ ПЛОДОВЫХ И ЯГОДНЫХ КУЛЬТУР В ЦЕНТРАЛЬНОМ И ПОВОЛЖСКОМ РЕГИОНАХ РОССИИ

Реферат. Исследовали распространение фитоплазменных болезней на плодовых и ягодных культурах в Центральном и Поволжском экономических районах России в 2012-2018 гг. Оценка заболевания, основанная на симптомах, показала, что распространенность фитоплазмозов яблони в коммерческих садах составляла от 49 до 82 %. Наиболее типичные симптомы поражения: мелколистность, свернутая листовая пластинка, хлороз или антоциановая окраска листьев, укорочение междоузлий, увеличение размера прилистников, пролиферация побегов, уменьшение размера плодов, деформация генеративных органов, отмирание отдельных ветвей и всего растения. Покраснение лепестков, усиленное развитие чашелистика наблюдалось на черной смородине (*Ribes nigrum*). Цветки земляники садовой (*Fragaria* × *ananassa*), инфицированные фитоплазмой, превращались в филлодии, а бутоны приобретали уродливую форму. Асимметричную форму лепестков можно было увидеть во время второго осеннего цветения яблони (*Malus domestica*) и вишни (*Prunus* subgen. *Cerasus*). Таксономическая принадлежность фитоплазм была определена с использованием ПЦР и ПДРФ-анализа. Фитоплазмы, относящиеся к группе 16SrI, были идентифицированы у вишни и сливы (*Prunus domestica*); фитоплазма группы 16SrIII была обнаружена у малины, черной смородины и земляники. В другом случае малина была заражена фитоплазмой из группы 16SrVI. Фитоплазма группы 16SrX была выявлена у груши (*Pyrus communis*); фитоплазма группы 16SrXII была обнаружена у вишни, груши и яблони, а также в виноградной лозе (*Vitis vinifera*). Наличие фитоплазменных заболеваний плодово-ягодных культур, визуально наблюдаемых в Центральном и Поволжском экономических районах, подтверждено с использованием молекулярно-генетических методов. Фитоплазмы, принадлежащие к пяти таксономическим группам, были обнаружены у девяти видов плодовых и ягодных культур (2 видов плодовых, 2 видов косточковых и 4 видов ягодных). Учитывая большой урон, причиняемый садоводству фитоплазменными болезнями, необходимо проводить комплексный мониторинг заболеваний в питомниках и на промышленных плантациях.

Ключевые слова: фитоплазменные заболевания, плодовые и ягодные культуры, таксономическая принадлежность фитоплазмы

Summary. We studied the spread of phytoplasmic diseases in fruit and small fruit crops in the Central and Volga economic regions of Russia in 2012-2018. An evaluation based on the symptoms of the disease showed that the distribution of apple phytoplasma diseases in commercial gardens ranged from 49 % to 82 %. Small-leaflets, curled leaves, chlorosis or anthocyanin leaf coloring, shortening of internodes, increase in size of stipules, proliferation of shoots, the decrease in the size of the fruits, the deformation of the generative organs, dieback of individual branches and the whole plant were the most typical symptoms of damage. Redness of the petals, enhanced the development of the sepal were observed on black currants (*Ribes nigrum*). Strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) formed an ugly bud, or its flowers turned into phyllodia. The asymmetrical shape of the petals could be seen during the second autumn flowering of apple (*Malus domestica*) and cherry (*Prunus* subgen. *Cerasus*). The taxonomic affiliation of phytoplasmas was previously determined using PCR and RFLP analysis. Phytoplasmas belonging to the 16SrI group were identified in cherry and plum (*Prunus domestica*); phytoplasma group 16SrIII was found in raspberry, black currant and strawberry. In the other case the raspberry was infected with phytoplasma of 16SrVI group. Phytoplasma belonging to 16SrX group was found in pear-tree (*Pyrus communis*); 16SrXII phytoplasma was found in cherry, pear and apple trees, as well as in the vine (*Vitis vinifera*). The presence of phytoplasma diseases of fruit and small fruit crops, visually observed in the Central and Volga economic regions, is confirmed using molecular genetic methods. Phytoplasmas belonging to five taxonomic groups were found in nine species of fruit crops (2 species of fruit, 3 species of stone fruit and 4 species of small fruit). Taking into account the high damage caused by phytoplasma diseases to horticulture, it is necessary to conduct comprehensive monitoring of diseases in nurseries and on commercial plantations.

Keywords: phytoplasma diseases, fruits and small fruit crops, phytoplasma taxonomic affiliation

Введение

Российская Федерация — один из крупнейших в мире импортеров плодоовощной продукции. По данным Росстата, основным производителем фруктов и ягод в России являются частные хозяйства. Одной из причин недостаточного производства плодово-ягодной продукции могут быть вредоносные организмы, из которых наименее изученными и сложными в контроле являются фитоплазмы. Эти возбудители болезней растений были открыты лишь полвека назад. В 1967 г. японские исследователи, изучая под электронным микроскопом ультратонкие срезы флоэмы шелковицы и других растений с симптомами карликовости, идентифицировали микроорганизмы, похожие на микоплазмы животных, и назвали их микоплазмоподобными организмами [1].

С внедрением в фитопатологическую практику методов молекулярной диагностики фитоплазменная природа заболеваний была выявлена более чем у 1 000 видов растений из более 100 семейств, и каждый год этот список расширяется. В отдельных странах из-за потепления климата фитоплазменные болезни стали для некоторых культур эпифитотийными.

Фитоплазмозы наиболее опасны для многолетних насаждений, поскольку часто грозят растениям гибелью. В течение длительного времени не было

четкого объяснения причины массовой дегенерации плодовых и ягодных культур (яблоня, груша, абрикос, персик, миндаль, вишня, слива, цитрусовые, пальмы и виноградная лоза), а также декоративных и лесных деревьев и кустарников. Однако с начала 1990-х гг. с появлением методов молекулярной диагностики, основанных на полимеразной цепной реакции (ПЦР) и анализе полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ), было показано, что причиной такой деградации является фитоплазменная инфекция. Во время длительного роста плодовые культуры постоянно заселяются многочисленными видами насекомых, в том числе принадлежащими к семействам *Cicadellidae* и *Psyllidae* из отряда Hemiptera, которые являются носителями фитоплазм. Другой способ распространения инфекции — вегетативное размножение. Известны случаи срастания корней зараженных и здоровых растений через паразитическое растение повилику (*Cuscuta* L.), что приводило к передаче инфекции. В течение некоторого времени фитоплазменная инфекция может присутствовать в растениях в скрытой форме. В этом случае такие молекулярно-генетические методы, как ПЦР и ПДРФ, незаменимы и эффективны для диагностики.

В настоящей статье представлены результаты многолетнего мониторинга фитоплазменных болезней плодовых и ягодных культур, основанные на сочетании симптоматической и молекулярно-генетической диагностики.

Материалы и методы исследований

Образцы листьев плодовых и ягодных культур были собраны в Центральном и Поволжском регионах России в 2012-2018 гг. Центральную и боковые жилки вырезали из листьев и замораживали при –20 °С. Растительную ткань (0,3 г) измельчали в фарфоровой ступке с ЦТАБ-буфером (3 мл). Суммарная ДНК была экстрагирована с использованием коммерческого набора DNeasy Plant Mini (Qiagen, Valencia, CA) в соответствии с инструкциями производителя. Анализ ДНК на наличие фитоплазмы проводили по ранее описанной методике [2]. Для определения принадлежности фитоплазмы к группе/подгруппе ПЦР продукты обрабатывали рестрикционными ферментами *Alu*I, *Mse*I, *Hha*I, *Hpa*II и *Taq*I (каждым отдельно). Продукты рестрикции разделяли электрофоретически в 5 %-ном ПААГ. Полученные профили сравнивали с опубликованными реальными или виртуальными рестрикционными картами [3, 4].

Результаты исследований

Первоначальный мониторинг фитоплазменных болезней включал оценку комплекса типичных симптомов заболевания в садах.

В течение 2012-2018 гг. было показано, что два вида плодовых культур, яблони и высокорослые груши (*Pyrus communis* / *domestica* L.) с симптомами

мелколистности, скручивания, хлороза и покраснения листьев, кустистости и карликовости были заражены фитоплазмой, относящейся к подгруппе столбура — 16SrXII-A. Другая разновидность грушевого дерева — колоновидная — была заражена фитоплазмой из группы усыхания груши — 16SrX (подгруппа 16SrX-C) (табл. 1).

Фитоплазмы, относящиеся к двум таксономическим группам, были обнаружены в косточковых культурах из Центрального экономического района России. Вишня (*Prunus* subgen. *Cerasus* Mill.), имеющая мелкие и гофрированные листья, а также листовые розетки, была заражена фитоплазмой группы желтухи астр — 16SrI. Другое дерево вишни с аналогичными симптомами было заражено фитоплазмой группы столбура 16SrXII-A. Фитоплазма группы желтухи астр, подгруппы 16SrI-B, была обнаружена в сливе домашней (*Prunus domestica* L.). При анализе ягодных культур фитоплазма группы X(икс)болезни 16SrIII была выявлена у малины (*Rubus idaeus* L.) с симптомами мелкой гофрированной листовой пластинки, хлороза и скручивания верхних листьев. Фитоплазма подгруппы 16SrVI-A была обнаружена у малины с симптомами покраснения листьев. Фитоплазма подгруппы 16SrIII-B была идентифицирована у садовой земляники (*Fragaria* × *ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier) с симптомами угнетения роста, изменения цветоносов и ягод, а также у саженцев первого года черной смородины с чрезмерным ветвлением боковых побегов.

Таблица 1.
Фитоплазмы, выявленные на плодовых и ягодных культурах в Центральном и Поволжском экономических районах РФ в 2012-2018 гг.

Название культуры	Симптомы	Группа / подгруппа
плодовые культуры		
Malus domestica Borkh. — яблоня домашняя	слабый хлороз, антоциановая окраска листьев, усыхание верхних ветвей	16SrXII-A
Pyrus communis (domestica) L. — груша	кустистость, хлороз, извитые побеги	16SrXII-A
Pyrus communis L. — груша колоновидная	замедленнный рост, кустистость, антоциановая окраска, скрученность листьев	16SrX
косточковые культуры		
Prunus domestica L. — слива домашняя	скрученность листьев, покраснение верхних листьев	16SrIB
Prunus subgen. *Cerasus* Mill. A. Gray — вишня	кустистость, карликовость побегов; мелкие хлоротичные и красноватые гофрированные листья	16SrXIIA

Окончание табл. 1

Название культуры	Симптомы	Группа / подгруппа
Prunus subgen. *Cerasus* Mill. A. Gray — вишня	нет симптомов	16SrI
ягодные культуры		
Fragaria × *ananassa* (Duchesne ex Weston) Duchesne ex Rozier — земляника садовая	угнетение роста, изменение цветоносов, бутонов и ягод	16SrIIIB
Ribes nigrum L. — черная смородина	чрезмерное боковое ветвление саженцев первого года	16SrIIIB
Rubus idaeus L. — малина	хлороз, сморщенные листья	16SrIII
Rubus idaeus L. — малина	покраснение листьев	16SrVIA
Vitis vinifera L. — виноград	хлороз, мелколистность, пролиферация побегов	16SrXII–A

Виноградная лоза (*Vitis vinifera* L.) из Самарской области с симптомами хлороза, мелколистности и повышенной кустистости была заражена фитоплазмами подгруппы столбура — 16SrXII-A.

Фитоплазмы, заселяющие клетки ситовидных трубок, препятствуют оттоку продуктов фотосинтеза и равномерному распределению эндогормонов, что приводит к патологическим изменениям, усиливающимся в периоды засухи. Фитоплазменная инфекция напрямую влияет на процессы формирования генеративных органов и защитных веществ растений. Заболевшие растения становятся более привлекательными для заселения и питания насекомых, повышают их плодовитость и создают благоприятные условия для заражения растений патогенными грибами, бактериями и вирусами. Снижая иммунитет инфицированных растений, фитоплазмы вызывают изменения в экосистемах, меняя агроландшафт больших площадей.

В 1970-х гг. на половине саженцев яблонь в питомниках Поволжья наблюдалось образование розеток мелких листьев — признак фитоплазменной инфекции. Это привело к гибели трети деревьев в течение пяти лет после посадки. Продуктивность больных деревьев снизилась на 50-60 % [5]. В 2000-х гг. в коммерческих садах Самарской области симптомы фитоплазменной инфекции были зарегистрированы у 49-82 % яблонь [6]. Широко распространенные фитоплазменные повреждения садовых культур наблюдались в Краснодарском крае и других регионах России [7].

В Самарской области связанное с фитоплазмами усыхание, сопровождавшееся симптомами «ведьминой метлы», помимо плодовых деревьев было характерно для вяза, ясеня, тополя и ивы [8].

Ранее исследователи из Всероссийского института карантина растений обнаружили фитоплазму группы 16SrV у растений малины с симптомами пожелтения и дегенерации из Московской области, фитоплазму группы 16SrVI — у растений клубники из Воронежской области и фитоплазму подгруппы 16SrX-C — у груши из Дагестана [9].

Выводы

Данные первичного мониторинга показывают, что в России, как и в других странах, фитоплазменные заболевания плодово-ягодных культур довольно широко распространены, поэтому необходимо расширять исследования в основных регионах промышленного садоводства. При этом следует уделять внимание всем звеньям эпифитотийного процесса: возбудителю болезни, восприимчивости культуры к болезни (вида и сорта), насекомым и другим переносчикам и сорнякам — как резерваторам инфекции. Для достижения результата необходимо проводить мониторинг заболеваний с использованием классических и современных молекулярно-генетических методов не только в системе карантина растений, но и на всех этапах размножения и развития растений в питомниках и в промышленном садоводстве.

Список использованной литературы

1. **Doi Y.,** Teranaka M., Yora K., Asuyama H. 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 // Annals of Phytopathological Society Japan, 1967. – Vol. 33. — P. 259–266. URL: https://www.jstage.jst.go.jp/article/jjphytopath1918/33/4/33_4_259/pdf (ссылка активна на 15.07.2019).

2. **Методика** определения фитоплазм с использованием молекулярных методов диагностики: ПЦР и ПДРФ / Гирсова Н. В., Кастальева Т. Б., Можаева К. А.; Под общ. ред. К. А. Можаевой. — М.: Россельхозакадемия, 2013. — 24 с.

3. **Lee I.-M.,** Gundersen-Rindal D. E., Davis R. E., Bartoszyk I. M. Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16S rRNA and ribosomal protein gene sequences // International Journal of Systematic Bacteriology, 1998. — Vol. 48. — P. 1153–1169.

4. **Wei W.,** Davis R. E., Lee I.-M., Zhao Y. Computer-simulated RFLP analysis of 16S rRNA genes: identification of ten new phytoplasma groups // Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 2007. — Vol. 57. — P. 1855–1867. DOI 10.1099/ijs.0.65000-0

5. **Чефранова Л. И.** Розеточность-мелколистность яблони в Поволжье: автореф. дис. … канд. биол. наук. — М., 1973. — 19 с.

6. **Богоутдинов Д. З.,** Белоусова О. А. Сравнительная поражённость сортов яблони заболеваниями // Сборник статей междунар. конференции. — Саратов: СГАУ, 2013. – С. 149–150.

7. **Бунцевич Л. Л.,** Захарченко В. В. За безвирусное садоводство и питомниководство на юге России // Защита и карантин растений, 2003. — № 7. — С. 12–13.

8. **Гирсова Н. В.,** Богоутдинов Д. З., Можаева К. А., Кастальева Т. Б. Фитоплазмозы деревьев и кустарников в Поволжье // Известия ТСХА, 2014. — Вып. 5. — С. 36–49. http://timacad.ru/deyatel/izdat/izvestia/5-2014.pdf

9. **Матяшова Г. А.** Разработка и совершенствование методов диагностики фитоплазм — возбудителей болезней плодовых и ягодных культур: автореф. дис. … канд. биол. наук. — М., 2017. — 22 с.

[1]D. Z. Bogoutdinov, [2]N. V. Girsova, [2]T. B. Kastalyeva

[1]Samara State Agricultural University, Ust'-Kinelsky, Samara region, Russia

[2]All-Russian Research Institute of Phytopathology, Bolshie Vyazyomy, Moscow Region, Russia

PHYTOPLASMIC DISEASES OF FRUIT AND SMALL FRUIT CROPS IN THE CENTRAL AND VOLGA REGIONS OF RUSSIA