

## **ДІАГНОСТИКА БАКТЕРІАЛЬНИХ ПАТОГЕНІВ СОЇ**

*Висвітлено підсумки багаторічної роботи щодо прояву симптомів ураження сої фітопатогенними бактеріями та запропоновано п'ятибальну шкалу для визначення ступеню вірулентності основних збудників бактеріозів сої.*

**Ключові слова:** *соя, фітопатогенні бактерії, вірулентність, симптоми, захворювання.*

Перші повідомлення про виявлення на сої бактеріальних хвороб відносяться до початку ХХ століття [1]. Коло збудників бактеріальних захворювань сої визначено багатьма вченими зі всього світу, так як ареал вирощування сої давно вже не обмежується азійськими регіонами. Європа і Америка постійно збільшують темпи розширення посівів цієї важливої для сільського господарства рослинної культури, зокрема в Україні за останні роки площі посівів вирости майже в 6 разів. Розповсюдженість різних типів захворювань сої неоднакова і залежить від багатьох факторів. Найбільш розповсюдженими і шкідливими збудниками бактеріозів сої є *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* (кутаста плямистість сої), *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* (пустульний бактеріоз сої, синонім іржаво-бура плямистість), *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (дикій опік сої). Крім цих збудників на сої паразитують: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola*, *Ralstonia solanacearum*, *Xanthomonas fuscans* pv. *fuscans*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, *Ralstonia solanacearum* та *Rhizobium japonicum*; умовно патогенні *Pantoea agglomerans*, *Pseudomonas viridiflava*, *Xanthomonas heterocephala*. В експерименті захворювання сої викликається *Agrobacterium tumefaciens* [1]. В останні роки з'являються повідомлення про активізацію агресивності умовних патогенів, зокрема *Pantoea agglomerans* [2].

У даній статті представлені результати багаторічних спостережень за проявом патогенної інфекції за природного і штучного ураження сої бактеріальними фітопатогенами. Метою роботи було систематизувати літературні та експериментальні дані по виявленню бактеріальної інфекції

та розробити схеми визначення ступеня ураження сої за штучною інокуляцією рослин.

**Матеріали і методи досліджень.** Об'єктом досліджень були збудники бактеріальних інфекцій сої (*Glucine* Max. ), які розповсюджені в різних регіонах України. Обстеження та ізолювання збудників проводили на районованих сортах та сортозразках сої, науково-дослідних сортовипробувальних посівах. Спостереження за появою та проявленням інфекційних захворювань окрім сортоділянок проводили також на колекційних і виробничих посівах сої переважно у лісостеповій зоні та вибірково у інших кліматичних зонах України.

В лабораторних умовах об'єктом досліджень були бактеріальні ізоляти, отримані при обстеженні експериментальних та виробничих посівів сої. У виділених ізолятих вивчали морфологічні, культуральні та фізіологічні властивості. Патогенні властивості виділених ізолятих вивчали шляхом штучного зараження паростків і дорослих рослин у фазі дозрівання. За розвитком візуальних ознак робили висновки про патогенність дослідних бактеріальних культур. Оцінку вірулентності проводили за розробленою нами 5-ти бальною системою для основних збудників сої. Ця оцінка була деталізована нами для наших об'єктів спираючись на загальну чотирибальну систему для фітопатогенних бактерій [6].

Як еталон використовували колекційні бактеріальні культури (Українська колекція мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К.Заболотного), які належать до збудників бактеріальних хвороб сої: *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* – 5 штамів; *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* – 5 штамів; *Xanthomonas fuscans* pv. *fuscans* – 3 шт., *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* – 1шт.; та умовний патоген *Pantoea agglomerans* – 1шт., а також нові ізоляти збудників бактеріозів сої (180 штамів). Така кількість використаних штамів дає змогу врахувати штамову варіабельність прояву біологічних властивостей у діагностичних тестах і при визначенні вірулентності дослідних патогенів.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Вивчення і визначення ураження рослин фітопатогенними бактеріями проходить значно складніше ніж іншими паразитами (грибами, вірусами, комахами). На різних фазах росту рослини, різних циклах розвитку бактеріальної популяції, при зміні погодних умов симптоми бактеріального ураження можуть бути схожі між собою, із ураженням грибними захворюваннями, а також нагадувати стан викликаний рядом абіотичних факторів. За нашими спостереженнями недостатність будь-якого елемента живлення, опік

гербіцидами або інші порушення агротехнічних умов вирощування сої можуть теж викликати появу симптомів зовні схожих на бактеріальні ураження: некрозів, хлорозів, опіків, плямистостей.

Розвиток інфекційних процесів найбільш розповсюджених основних збудників бактеріозів сої *P. savastanoi* *pv. glycinea* (кутаста плямистість) та *X. axonopodis* *pv. glycinis* (пустульний бактеріоз) на певних стадіях розвитку характеризується подібними симптомами. Якщо на початковій стадії ураження сої на кутасту плямистість спостерігається поява водяно-прозорих маслянистих плям, то збудник пустульного бактеріозу утворює на листі спочатку зеленувато-коричневі або червонувато-коричневі плями, які слабо просвічують, з наступним утворенням пустул. Але на більш пізній стадії розвитку (переважно наливу і дозрівання) плями пустульного бактеріозу вже зовні схожі на плями, викликані збудником кутастої плямистості, пустули лопаються і зливаються утворюючи суцільні буро-коричневі ділянки.

*P. syringae* *pv. tabaci* (бактеріальний опік) утворює світло-бурі некротичні плями різних розмірів, часто кутасті неправильної форми, оточені широким жовтим ореолом. У той час, як плями кутастої плямистості можуть, але не завжди, мати вузький жовтий ореол. Хвороба з'являється спочатку на нижніх листьях, чим відрізняється від збудника кутастої плямистості і швидко розповсюджується у вологу погоду. Плями збільшуються, некротизуються і утворюють великі ділянки ураженої тканини, найчастіше по краю листка з хлоротичним ореолом. І в цей період нагадують розповсюдження ураження *P. savastanoi* *pv. glycinea* [1,6].

*Xanthomonas fuscans* *subsp. fuscans*, відомий як збудник дрібної коричневої плямистості, описані переважно на квасолі. Нами вперше в Україні він ізольований із сої. За біологічними [1] властивостями подібний до *X. axonopodis* *pv. glycinis*.

Ураження *X. fuscans* *subsp. fuscans* на сої характеризувалося появою дрібних, маслянистих сіро-коричневих плям на листках. Поступово ці плями починають збільшуватися та стають коричневими. Середина плями світло-коричнева або палева, із світло-коричневою облямівкою. Навколо плям утворюється хлоротичний ореол. Форма плям округла, інколи кутаста. Плями некротизуються і випадають. З уражених листків хвороба переходить на жилки та черешки, які починають червоніти та буріти. Якщо черешок уражується у місці прикріплення листя, то листок відламується. На стеблі з'являються іржаві-бурі смуги. Виразки, які описані в літературі [1] ми не спостерігали. Як видно з опису, протягом періоду вегетації розвиток симптомів у певні періоди нагадує ураження, які викликають *P. savastanoi* *pv. glycinea*. та *X. axonopodis* *pv. glycinis* або *P. syringae* *pv. tabaci*. Тобто на

пізній стадії розвитку інфекції тільки ізоляція патогена може забезпечити достовірну діагностику.

При ураженні сходів (на сім'ядолях) фітопатогенними бактеріями родів *Xanthomonas* та *Pseudomonas* існує багато нюансів, які притаманні ураженню кожного типу бактеріозу, але поява світло чи темно-коричневих плям з наступним змінням форм і розмірів спостерігається майже завжди.

Треба звернути увагу на те, що захворювання, які викликають два різних збудника пустульного бактеріозу та бактеріального в'янення (*X. axonopodis* pv. *glycines* та *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*), мають в науковій літературі однакові основні назви – «іржаво - бура плямистість», що відображає схожість прояву інфекції в певний період її розвитку.

Якщо більшість бактеріальних патогенів сої уражують усі наземні частини рослини, то збудник «смугастості стебла» *Pantoea agglomerans* уражує переважно стебла, черешки та жилки. За час цвітіння рослин на нижній частині стебла з'являються червоно-коричневі, пурпурові подовжені плями та смуги. Ураження на стеблах особливо небезпечні, так як вони поступово охоплюють усе стебло. При сильному ураженні інфекція проникає у паренхіму і рослина гине. При ураженні стебла сої збудником кутастої плямистості на стеблах розвиваються подовжені світло-коричневі плями, які згодом темніють, стають чорно-коричневими, розтікаються по стеблу нагадуючи смуги. Приблизно такі ж симптоми при ураженні стебла сої *P. syringae* pv. *syringae* [1,2,6]. Тільки на початку розвитку інфекції чорно-коричневі плями дрібніші за ті, які викликає *P. savastanoi* pv. *glycinea*. У *X. axonopodis* pv. *glycines* - на стеблі захворювання проявляється у вигляді сухих коричневих шоколадно-червоних смуг, які згодом чорніють. У місцях ураження з'являються перетяжки, стебло може переломлятися, рослина гине. Тобто знову проявляється схожість симптомів різних збудників, а деякі характерні нюанси прояву захворювання можуть маскуватися у природних умовах дією біотичних і абіотичних факторів і тільки лабораторна діагностика може підтвердити діагноз.

У період коли на рослинах сої починають розвиватися грибні захворювання, визначення бактеріальних захворювань утруднюється завдяки подібності прояву симптомів на певних ступенях розвитку грибних та бактеріальних паразитів. Так, наприклад, при дифузному ураженні рослин несправжньою борошністою россою (*Peronospora manshurica* S.) на листях та сім'ядолях спочатку виявляються хлоротичні ділянки [4]. Такі ж самі жовті хлоротичні ділянки чи облямівки можна зустріти на листях сої при

початковому розвитку більшості бактеріальних інфекцій з тією тільки різницею, що при бактеріальному ураженні завжди посеред хлоротичної ділянки буде різного розміру некротична пляма. Але при сумісній бактеріально-грибній інфекції симптоми накладаються. Так, наприклад, на початковій стадії захворювання рослин на антракноз (*Colletotrichum lindemuthianum* Br. et Cav.) ураження на стеблах, черешках і литтях проявляється у вигляді бурих або чорних плям [4], які, у випадку відсутності ознак спороношення, нагадують бактеріальні ураження. Те ж стосується і ряду інших широко розповсюджених грибних захворювань сої.

Таким чином, можна зробити висновок, що якщо ураження грибною інфекцією знаходиться на тій стадії розвитку коли ще візуально не визначається наявність спороношення, то бактеріальне і грибне ураження схожі візуально. При цьому сумісна інфекція маскується накладанням грибного ураження на бактеріальне і тільки лабораторна ізоляція збудника і визначення його *in vitro* може дати остаточне визначення таксономічної приналежності патогену.

Однією з основних біологічних ознак ізолюваної бактеріальної культури буде визначення ступеню його агресивності. Шкала визначення ступеню агресивності бактеріальних фітопатогенних збудників захворювань сільськогосподарських та інших рослин має декілька варіантів. Це 4-х чи 5-ти бальна схема [1], або 9-10-бальна, яку використовують у разі досконального вивчення біологічних ознак окремого збудника. Але при широкому фітопатологічному обстеженні посівів потрібна уніфікована шкала. Ми пропонуємо користуватися наступною шкалою при визначенні агресивності основних збудників бактеріальних захворювань сої (1,2,3,4).

### 1. Визначення ступеню агресивності збудника пустульного бактеріозу сої при штучній інокуляції

Оцінка у балах	Xanthomonas axonopodis pv. glycines бактеріозу сої		
	листя	стебла	боби
0	Сліди від ін'єкцій у вигляді світлих цяток	Сліди від ін'єкцій	Сліди від ін'єкцій
1	Червоно-коричневі коричневі плями	Чорні плями	Зеленувато-коричневі плями
2	Плями темніють, стають непрозорими, інколи з хлорозом	Подовжені плями	Чорно-коричневі мокнучі плями
3	Чорні плями з хлорозом, часто з'являються пустули	Сухі, коричневі смуги	Плями збільшуються, сірий ексудат
4	Плями зливаються у великі некротичні ділянки	Перелом стебла в місці ураження	Загнивання та чорний ексудат

## 2. Визначення ступеню агресивності збудника кутастої плямистості сої при штучній інокуляції

Оцінка у балах	Pseudomonas savastanoi pv. glycinea		
	листя	стебла	боби
0	Сліди від ін'єкцій у вигляді світлих цяток	Сліди від ін'єкцій	Сухі, безкольорові цятки
1	Червоно-коричневі або чорні плями (1-3мм) неправильної форми, можливо з жовтим ореолом	Чорні плями на місці уколу	Чорні плями на місці уколу
2	Червоно-коричневі або чорні плями неправильної форми, можливо з жовтим ореолом або маслянистими розводами до 5-6 мм	Плями становляться подовженими	Початок некротизації плям або розтікання
3	Червоно-коричневі або чорні плями неправильної форми, можливо з жовтим ореолом або маслянистими розводами до 7-8 мм	Плями некротизуються і подовжуються	Плями до 5-8 мм, поява перетяжки бобу, ексудата
4	Червоно-бурі, маслянисті з переходом у сухі некротичні плями, можливо продірявлені; опадання листя	Чорно-коричневі смуги 10-15мм	Чорні мокнучі плями та ексудат, плями до 10-15 мм, розтріскування бобу

## 3. Визначення ступеню агресивності збудника смугастості стебла при штучній інокуляції сої

Оцінка у балах	Pantoea agglomerans
0	Відсутність ураження або сліди від введення бакт. завісі
1	Коричневі або чорні продовгуваті плями
2	Початок розповсюдження чорних плям по стеблу 5-10 мм
3	Подовжені чорно-коричн. некрози по всьому стеблу
4	Розповсюдження некротичних смуг та переломів

#### 4. Визначення ступеню агресивності збудника бактеріального опіку сої при штучній інокуляції

Оцінка у балах	Pseudomonas syringae pv. tabaci		
	листя	стебла	боби
0	Сліди від ін'єкцій у вигляді світлих цяток	Сліди від ін'єкцій	Чорні плями на місці уколу з жовтою облямівкою
1	Поява хлоротичного ореолу навколо безжовтих цяток	Коричневі плями на місці уколу	Чорні вдавлені плями на місці уколу
2	Ореолі плями збільшуються	Плями становляться подовженими	Початок всихання бобу
3	Плями поступово зливаються і некротизуються	Плями некротизуються і подовжуються	Всихання та розповсюдження плям
4	Ураження розповсюджується на більшу частину листка	Стебло переломлюється у місці ураження	Боби повністю всихають або скручуються

Запропоновану нами шкалу ураження можна також використовувати і при визначенні природного ураження сої.

**Висновки.** Внаслідок проведених спостережень і досліджень визначено, що на різних фазах росту рослин, при зміні циклів розвитку патогенної мікрофлори, симптоми ураження рослин бактеріальними і грибовими паразитами можуть бути схожі між собою, або маскувати одне одного при сумісній інфекції. Остаточне визначення бактеріальних патогенів сої можливе тільки при поєднанні методів візуального фітопатологічного обстеження і лабораторної діагностики. Запропонована 5-ти бальна шкала оцінки вірулентності основних збудників бактеріозів сої при штучному інокулюванні.

### Бібліографічний список

1. Бельтюкова К. И., Королева И. Б., Мурає В. А. Бактериальные болезни зернобобовых культур. Киев: Наук. думка, 1974. – 340 с.
2. Житкевич Н. В., Жмурко Л. Г. Розповсюдження бактеріальних захворювань сої у Київській області // Вісник Одеського Національного Університету. – т.10, в.7.( Біологія) – 2005. – С.244 – 248.
3. Житкевич Н. В., Жмурко Л. Г., Михайлов В. Г., Поліщук С. В. Реакція сортів та перспективних ліній сої на інфекцію культивації фітопатогенними бактеріями. Фітопатогенні бактерії. Фітонцидологія. Аллелопатія. 4-6 жовтня 2005г., м. Київ.: Житомирський Державний агроєкологічний університет, 2005.- 52-54 с.
4. Попкова К. В. Общая фитопатология. – М.: Агропромиздат, 1989. – 396 с.
5. Шкалик В. А., Белошапкина О. О., Букреев Д. Д. и др. Защита растений от болезней. – Москва: «Колос», 2004. – 250с.
6. Abo-Moch F., Mavridis A., Rudolph K. Rassenvorkommen von *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* dem Erreger des Bakterienbrandes der Sojabohne in Europa // Mitt. Biol. Bundesanst. Land-und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem. – 1992. – N 283. - С. 326.
7. Klement Z., Rudolf K., Sands D. C. Methods in phytobacteriology.- Budapest: Akademiai Kiado, 1990.- 568 p.
8. Mew T. W., Kennedy B. W. Seasonal variation in populations of pathogenic *Pseudomonas* on soybean leaves // *Phytopathology*/ - 1982. - 72. - P. 103 – 105.