



Рослинництво, кормовиробництво

УДК 579.84:632.35:618.825.1
© 2015

ЗБУДНИКИ БАКТЕРІАЛЬНИХ ХВОРОБ СОЇ ТА ЇХ МОНІТОРИНГ

В.П. Патика,
академік НААН,
доктор
біологічних
наук

Т.Т. Гнатюк
Н.В. Житкевич
Інститут
мікробіології
і вірусології
ім. Д.К. Заболотного
НАН України

Мета. Моніторинг бактеріальних патогенів сої, визначення ризиків їх поширення та біології, що дає змогу підійти до питань біоконтролю. **Методи.** Фітопатологічні, мікробіологічні, біохімічні, статистичні. **Результати.** Проаналізовано результати 4-річного моніторингу посівів сої на ураження фітопатогенними бактеріями. Показані нові тенденції та закономірності поширення бактеріальних фітопатогенів сої за 2010–2014 рр. **Висновки.** За 4-річного екосистемного моніторингу посівів сої у 8-ми областях України визначено перерозподіл акцентів серед видового складу основних і другорядних збудників бактеріозів сої.

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

Виробництво сої в Україні, яка має сприятливі ґрунтово-кліматичні умови для її вирощування, значно зросло. В умовах інтенсифікації виробництва за пріоритетами у вирощуванні зернових культур соя вийшла на 3-тє місце. Так, у період з 1990 по 2011 р. посівні площі цієї культури збільшилися від 87,8 тис. га до 1,2 млн га (більше ніж у 12,6 раза), а виробництво — від 99 тис. т до 2,3 млн т (у 22,9 раза). Урожайність насіння сої за цей період підвищилася від 11,3 до 20,4 ц/га (в 1,8 раза). Проте неконтрольована інтродукція нових сортів сої, особливо зарубіжної селекції, відсутність екосистемного моніторингу у посівах сої за хворобами, шкідниками та бур'янами призвели до збільшення шкочинних факторів, особливо бактеріозів сої [1, 6, 10, 17].

Фітопатогенні збудники бактеріальних хвороб завдають посівам сої значних збитків. Їхній розвиток призводить до зниження продуктивності або загибелі рослин. Агресивні бактеріальні фітопатогени дуже

поширені в природі і в умовах, сприятливих для їх розвитку, завдають значної шкоди врожаю [1, 7, 9, 13].

Вивчення і щорічний моніторинг бактеріозів сої потрібні для розробки методів боротьби з ними, створення нових стійких і конкурентоспроможних сортів, прогнозування та запобігання поширенню епіфітотії [11]. Розпочатий нами моніторинг поширення бактеріозів сої в Україні в попередні роки свідчить про потенційну небезпечність розширення кола агресивних фітопатогенів [2, 7].

Мета роботи — моніторинг бактеріальних патогенів сої, визначення ризиків їх поширення та біології фітопатогенів сої, що дає змогу підійти до питань біоконтролю.

Матеріали і методи. Моніторинг проводили на науково-дослідних стаціонарах і виробничих посівах сої в Київській, Вінницькій, Черкаській, Чернігівській, Сумській, Полтавській, Рівненській та Херсонській областях. Обстежували рослини сої та ізолювали

1. Фітопатологічний аналіз зразків сої за роками

Рік	Зразки			Кількість ізолятів				
	Проаналізовано	З яких ізольовано бактерій	Ізольовано для подальшого вивчення	Жовтопігментні типу			Сіро-білі, напівпрозорі, типу <i>Pseudomonas</i>	Білі, непрозорі
				<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Xanthomonas</i>	<i>Curtobacterium</i>		
2010	148	113	92	18	24	9	39	2
2011	132	98	77	12	18	7	34	6
2012	318	202	132	8	33	17	61	13
2013	635	468	277	36	63	41	91	46
2014	175	137	72	7	21	10	22	12
Усього	1274	1018	650	81	132	84	189	79

збудника у фазах від сходів до цвітіння рослин, а також під час наливу та досягання зерна. Для визначення ураження посівів сої використовували метод лінійної оцінки [4, 8]. Відбирали листя та стебла рослин сої з симптомами бактеріального ураження і проводили бактеріологічний аналіз ураженого матеріалу. В лабораторних умовах об'єктом досліджень були бактеріальні ізоляти. Еталон — колекційні бактеріальні культури — збудники бактеріозів зернобобових (українська колекція мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного): *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* — 8541, 8571, 9072; *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* — 8609, 9075, 9178; *Pantoea agglomerans* УКМ В-1089, 1090; *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* — 6562, 6564, 6565, 6566a, 6567, 6568; *Xanthomonas fuscans* pv. *fuscans* — 9169, 7665, 8845; *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* — 8531, 8511, 8414; *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* — 223. Патогенні властивості виділених ізолятів бактерій визначали в польових умовах у 4-разовій повторності. Штучне зараження рослин сої (5 рослин для кожного ізоляту) проводили шприцом бактеріальною суспензією клітин у стебло і листя. Щільність суспензії — $1 \cdot 10^9$ КУО/мл. На кожній рослині 3-ма уколами інокулювали 3 яруси листя у 4-х повторях на кожному листку, а також стебла та боби. Контролем були 5 рослин сої, інокульованих стерильною водогінною водою. Облік штучного зараження проводили через 10–14 днів за 5-бальною шкалою [5, 8].

Вірулентність оцінювали за розробленою нами 5-бальною системою для основних

збудників сої. Оцінку було деталізовано для наших об'єктів, спираючись на загальну 5-бальову систему [5, 7] для фітопатогенних бактерій.

Для визначення належності збудника до роду *Pseudomonas* проводили надчутливу реакцію на тютюні за відомою методикою [3], яка визначає стійкість рослини до патогену. Реакція полягає в швидкому визначенні патогену рослиною та розвитку патологічних процесів, коли відбуваються: локалізація збудника захворювання в ділянці його проникнення, швидка некротизація клітин рослини і загибель патогену.

У виділених ізолятах бактерій вивчали морфологічні, культуральні, фізіологічні, біохімічні властивості за методом, наведеним у роботах Д. Герхардта [3] та З. Клемента [15]. Оксидазну активність визначали за Н. Ковач [16]. Ідентифікацію ізольованих бактерій проводили, порівнюючи їх властивості з характеристикою колекційних штамів і визначником бактерій [14].

Результати досліджень. Вивчення і визначення ураження рослин фітопатогенними бактеріями відбувається значно складніше, ніж іншими паразитами (грибами, вірусами, комахами). На різних фазах росту рослини, різних циклах розвитку бактеріальної популяції, у разі зміни погодних умов симптоми бактеріального ураження можуть бути схожі між собою, із ураженням грибними захворюваннями, а також нагадувати стан, зумовлений абіотичними чинниками. Тобто тільки ізоляція паразита забезпечить правильну діагностику. Остаточне визначення бактеріальних патогенів сої можливе тільки за поєднання методів візуального

2. Фізіолого-морфологічні та біохімічні властивості бактеріальних ізолятів і колекційних штамів

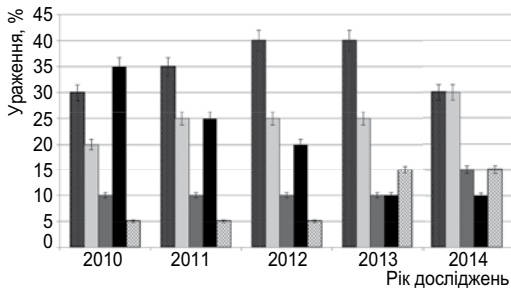
Фізіолого-біохімічні тести	Бактеріальні штами типу				
	<i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>glycinea</i>	<i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i>	Нетипові за морфологією ізоляти
Рухливість	+	+	+	+	+
Фарбування за Грамом	–	–	–	+	–
Оксидаза	–	–	–	–	–/+
Редукція нітратів	–	–	–	–	–/+
Лакмусова сироватка	Л	К	Л	–	К/Л
Використання молока	–	–	–	3	Г
Утворення H ₂ S	–	–	–	–	–
Гідроліз желатину	–	+	+	+	+/-
Використання:					
глюкози, сахарози	К	–	К	–	К
глюкози анаеробно, лактози	–	–	К	–	К
мальтози	–	–	–/	–	–
ксилози	К	К	К	–	–/К
рамнози	–	–	К	–	–/К
манози	–	–	К	–	–
галактози	К	–	К	–	К
дульциту	–	–	–	–	–
гліцерину	К	–	К	–	–
фруктози	К	К	К	–	К
рафінози	К	–	–	–	–
маніту	К	–	К	–	–
щавлевої кислоти	Л	Л	–	–	–
РНЧ	+	–	–	–	–
Пігмент	–	Жовтий	Жовтий	Жовтий	Коричневий

Примітка: «–» — відсутність ознаки; «+» — наявність ознаки; Л — луг; К — утворення кислоти; 3 — згорання; Г — гідроліз.

фітопатологічного обстеження і лабораторної діагностики. Тому за період з 2010–2014 рр. було проаналізовано 1274 рослини сої з характерними бактеріальними ураженнями (табл. 1). З них виділено 1018 ізолятів, з яких після бактеріологічного аналізу відібрано 650 штамів для подальшої роботи. Відібрано середньо- та високоагресивні штами, які умовно розподіляють на кілька груп фітопатогенних збудників бактеріозів сої: типу псевдомонад та 3 групи жовтопігментних.

Отримані дані свідчать, що нововиділені штами споріднені з тестовими колекційними за основними морфолого-культуральними і фізіолого-біохімічними властивостями. Тобто дослідження з визначення видового

складу збудників захворювань на основі вивчення їх фенотипових властивостей (табл. 2) підтверджують, що соя в Україні уражується: *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*, *Pantoea agglomerans*, а також *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, вперше виділеним нами в Україні з сої [12]. Серед інших збудників бактеріозів — *Xanthomonas fuscans* pv. *fuscans* (чорна дрібна плямистість), уперше ізольований нами в Україні [7]. Однак ізолюється він рідко. Про його наявність свідчить коричневий пігмент і чітка симптоматика як природного, так і штучного зараження. Серед збудників бактеріальних хвороб сої, яких за фенотиповими властивостями (див. табл. 2)



Співвідношення поширення бактеріальних хвороб сої протягом 5-ти років, %: ■ — кутаста плямистість; □ — пустульний бактеріоз; ■ — іржаво-бура плямистість; ■ — смугастість стебла; ▨ — інші бактеріальні захворювання

зараховано до роду *Pseudomonas*, певний відсоток (30–40%) становлять штами, які виявляли високу агресивність як до рослин сої, так і до інших сільськогосподарських культур. Це дає підставу визначати їх як *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, а ті з них, які не давали реакції надчутливості на тютюн, уражували тютюн як *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* [15]. Наявність останніх двох патогенів потребує підтвердження генетичними дослідженнями. Такий склад визначених патогенів збігається з даними літератури з бактеріальних хвороб сої у світі [13].

Спостереження за поширенням бактеріозів сої на дослідних посівах і фітопатологічний аналіз отриманих результатів дали змогу визначити загальне відсоткове співвідношення збудників за ураження рослин (рисунок).

Отже, основними збудниками, які викликають хвороби сої в Україні, є *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* (кутаста плямистість), *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* (пустульний бактеріоз), *Pantoea agglomerans* (смугастість стебла).

Наведені дані свідчать, що *Curtobacterium flaccumfaciens* (іржаво-бура плямистість),

вперше виявлений нами в Україні в певному сталому відсотку, має тенденцією до збільшення в посівах сої.

Спостереження за поширенням бактеріозів сої на дослідних посівах і фітопатологічний аналіз отриманих результатів дали змогу визначити загальне відсоткове співвідношення збудників за ураження рослин (див. рисунок). Серед основних збудників, які викликають хвороби сої в Україні, між *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* (кутаста плямистість) та *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* (пустульний бактеріоз) існує певний взаємозв'язок. Збудник кутасти плямистості сої є не лише невід'ємною складовою патогенної мікробіоти сої, а й становить 30–40% від уражених рослин. Зазвичай у літературі зазначають про сезонну зміну поширення основних збудників бактеріозів сої — коли *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*, який активно уражує рослину на перших фазах її росту, поступається *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* у фазі досягання бобів [5, 13]. Проте останніми роками збудник пустульного бактеріозу за поширенням і відсотком від хворих рослин на 2-му місці після *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*. Це пояснюється його більшою чутливістю до широкого кола пестицидів, які застосовують у сільському господарстві України [2, 7]. Факультативний фітопатоген *Pantoea agglomerans* виявляє тенденцію до циклічності появи саме високо-агресивних штамів (поряд із певною кількістю авірулентних варіантів), а також певну залежність від поширення основних збудників. Отже, *Curtobacterium flaccumfaciens* (іржаво-бура плямистість), вперше виявлена нами в Україні, має сталий розвиток (10–15%), з тенденцією до збільшення. За зниження відсотка основних бактеріозів підвищується відсоток другорядних (2013–2014 рр.), до яких (крім поліфагових псевдомонад) належать інші збудники бактеріозів зернобобових [13].

Висновки

За щорічного (2010–2014 рр.) екосистемного моніторингу посівів сої у 8 областях України визначено перерозподіл акцентів серед видового складу основних і другорядних збудників бактеріозів сої. Визначено, що до кола фітопатогенних бактеріальних збудників, які уражують сою, належать: *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea*,

Xanthomonas axonopodis pv. *glycines*, *Pantoea agglomerans*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, *Xanthomonas fuscans* pv. *fuscans*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* та *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. Виявлено взаємозв'язок між поширенням основних, другорядних і нетипових бактеріальних фітопатогенів.

Бібліографія

1. *Бабич А.О.* Селекція, виробництво, торгівля і використання сої у світі/А.О. Бабич, А.А. Бабич-Побережна. — К.: Аграр. наука, 2011. — 548 с.
2. *Бактеріальні хвороби сої*/В.П. Патица, Н.В. Житкевич, Т.Т. Гнатюк, О.О. Алексєєв//Наук. записки Тернопільського нац. ун-ту ім. В. Гнатюка. — Серія: Біологія. — 2012. — № 4 (53). — С. 9–14.
3. *Герхардт Д.Т.* Методы общей бактериологии: Вып. 2/Д.Т. Герхардт. — М.: Мир, 1983. — Т. 1. — 563 с.
4. *Горленко М.В.* Бактериальные болезни растений/М.В. Горленко. — М.: Высш. шк., 1966. — 300 с.
5. *Діагностика бактеріальних патогенів сої*/Н.В. Житкевич, Т.Т. Гнатюк, В.Ф. Петриченко, В.П. Патица//Корми і кормовиробництво. — 2009. — Вип. 64. — С. 62–69.
6. *Екологія мікроорганізмів*/В.П. Патица, Т.Г. Омелянець, І.В. Гриник, В.Ф. Петриченко. — К.: Основа, 2007. — 186 с.
7. *Житкевич Н.В.* Бактеріальні захворювання сої у Київській області/Н.В. Житкевич, Л.Г. Жмурко//Вісн. Одеського нац. ун-ту. Х з'їзд Товариства мікробіологів України. — Т. 10. — Вип. 7. — 2005. — С. 244–248.
8. *Методы исследования возбудителей бактериальных болезней растений*/К.И. Бельтюкова, М.С. Матышевская, М.Д. Куликовская, С.С. Сидоренко. — К.: Наук. думка, 1968. — 316 с.
9. *Наукові основи сталого розвитку агроєкосистем України: в 2-х т.* — Т. 1: Екологічна безпека агропромислового виробництва. — Т. 2: Науково-методичні основи збалансованого природокористування в агропромисловому виробництві/за ред. О.І. Фурдичка. — К.: ДІА, 2013. — 704 с.
10. *Нова стратегія виробництва зернових та олійних культур в Україні*/В.Ф. Петриченко, М.Д. Безуглий, В.М. Жук, О.О. Іващенко. — К.: Аграр. наука, 2012. — 48 с.
11. *Патица В.П.* Агроєкологічний моніторинг та паспортизація сільськогосподарських земель/В.П. Патица, О.Г. Тараріко. — К.: Фітосоціоцентр, 2002. — 296 с.
12. *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* — возбудитель бактеріального захворювання сої/Т.Т. Гнатюк, Н.В. Житкевич, Р.В. Грицай, В.Ф. Патыка//Микробиологический журнал. — 2013. — Т. 75, № 6. — С. 22–27.
13. *Фітопатогенні бактерії.* Бактеріальні хвороби рослин: [монографія: в 3-х т. — Т. 1]/Р.І. Гвоздяк, Л.А. Пасічник, Л.М. Яковлева та ін. — К.: ТОВ «НВП «Інтерсервіс», 2011. — 444 с.
14. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology.* — 2 nd ed.; *Proteobacteria.* The Alpha-, Beta-, Delta- and Epsilon *proteobacteria*/Ed. Gevegem. Ciarrety. — N.Y.: Springer, 2005. — V. 2. — 1388 с.
15. *Klement Z.* Rapid detection pathogenicity of phytopathogenic *Pseudomonas*/Z. Klement//Nature. — 1963. — 199, № 4890. — P. 299–300.
16. *Kovacs N.* Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction/N. Kovacs//Nature. — 1956. — 178. — P. 703.
17. *Pathan M.S.* Advances in soybean breeding/M.S. Pathan, D.A. Slepert//Genetics and Genomics of Soybean. — Springer. — 2008. — P. 113–133.

Надійшла 5.02.2015.