

## МІКРОБІОЛОГІЯ

УДК 579.64: 579.8: 633.34

### БАКТЕРІАЛЬНІ ЗАХВОРЮВАННЯ *CONVOLVULUS ARVENSIS* L. У ПОСІВАХ *GLYCINE MAX* (L.) MERR. ТА ЇХ ЗБУДНИКИ

© 2010 р. Л. М. Яковлева Т. М. Захарченко,  
Т. М. Щербина, В. П. Пати́ка

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного  
Національної академії наук України  
(Київ, Україна)

З некротичних уражень листків березки польової (*Convolvulus arvensis* L.) ізольовані фітопатогенні бактерії, ідентифіковані як *Pseudomonas syringae* та *Curtobacterium* sp. За штучного інфікування бактерії спричиняли появу некрозів на листках і стеблах березки польової, а також на листках, стеблах і бобах сої (*Glycine max* (L.) Merr.). Виявлено три ізоляти бактерій, які не уражували сою.

**Ключові слова:** *Convolvulus arvensis* L., *Glycine max* (L.) Merr., *Pseudomonas syringae*, *Curtobacterium* sp., фітопатогенні бактерії

В останні роки масова відмова землевласників та орендаторів орних земель від науково обґрунтованих структур посівів та чергування культур у раніше рекомендованих сівозмінах, застосування сівозмін з високим насиченням однорідними культурами або навіть беззмінне вирощування культур, перехід на поверхневі системи обробітку ґрунту призвели до істотного зростання рівня забур'яненості орних земель (Івашенко, 2010).

Все більшого значення набуває вплив коренепаросткових бур'янів, в тому числі березки польової (*Convolvulus arvensis* L.), на посіви культурних рослин (Бойко та ін., 2010). Цей вид входить до списку 10 основних найбільш шкодочинних бур'янів у світі (Косолап, 2004). За шкалою шкодочинності бур'янів Rode він має максимальний бал небезпеки – 3. Економічний поріг шкодочинності для березки польової складає 3-6 шт/м<sup>2</sup> (Косолап, 2004). Незважаючи

на те, що в світі широко досліджується як біогербіцид патогенний для березки польової гриб *Phomopsis convolvulus* (Ormeno-Nunez et al., 1988; Morin et al., 1989), пошук нових перспективних біологічних об'єктів контролю цього бур'яну залишається актуальним.

У ролі таких об'єктів могли б бути використані високоагресивні вузькоспеціалізовані фітопатогенні бактерії. У науковій літературі є одиничні повідомлення про бактеріальну плямистість листя *Convolvulus arvensis*, яку спричиняє *Xanthomonas campestris* pv. *convolvulia* в Індії (Bradbury, 1986), та китайської березки (*Ipomoea aquatica*, *Convolvulaceae*) у Таїланді – збудник *X. campestris* (Leksomboon et al., 1991). Березка польова не увійшла до списку рослин, на яких виявлено збудників захворювань бобових (*Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*, *P. syringae* pv. *phaseolicola*) серед епіфітної мікрофлори бур'янів у Болгарії (Bogatzevska, 1995a; 1995b). З використанням методу ELISA не виявлено *P. viridiflava* на березці в Туреччині (Aysan, Uygur, 2005). В цілому ж інформація з цього питання дуже обмежена.

Адреса для кореспонденції: Пати́ка Володимир Пилипович, Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, вул. Академіка Заболотного, 154, МСП, Д 03680, Київ, Україна;  
e-mail: vpatyuka@mail.ru

## БАКТЕРІАЛЬНІ ЗАХВОРЮВАННЯ

Метою нашої роботи було виявлення бактеріальних захворювань березки польової (*Convolvulus arvensis* L.) у посівах сої (*Glycine max* (L.) Merr.), ізоляція збудників, перевірка патогенності ізолятів та їх ідентифікація.

### МЕТОДИКА

Збір зразків уражених рослин проводили за загальноприйнятими методиками з травня до вересня 2007-2010 рр. під час обстежень польових доріг і посівів сої сортів Чернятко і Київська-27. Аналізували рослини сої у фазі сходів, 4-5 справжніх листків, бутонізації і у фазі дозрівання або зрілості на полях Інституту землеробства НААН України (Чабани, Києво-Святошинський район, Київська область). Для виділення і культивування патогенів використовували картопляний агар (КА), відібрані ізоляти бактерій вирощували за температури 27°C. Для порівняльного вивчення з колекції культур відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології (ІМВ) ім. Д.К. Заболотного НАН України в роботу були взяті нетиповий штам *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* 8511 (NCPPB 281, УКМ В-1027), *P. syringae* pv. *glycinea* 8541, *Pantoea agglomerans* Б-87 і *Curtobacterium flaccumfaciens* 6562.

Патогенні і вірулентні властивості ізолятів визначали шляхом штучного ураження березки польової та сої сортів Чернятко і Київська-27 у польових умовах або у вегетаційних будиночках. Суспензію бактерій (у концентрації  $10^9$  кл./мл стерильної водопровідної води) наносили на поверхню листків рослин з наступним пораненням голкою або вводили в стебло шляхом ін'єкції шприцом. Підрахунок штучного ураження проводили за 5-бальною шкалою.

Ізоляти, що уражували березку польову з оцінкою 4-5 балів, відносили до сильноагресивних (Чумаков и др., 1974). Повторність дослідів 5-7 разова. Фізіолого-біохімічні та культуральні властивості виділених ізолятів визначали, використовуючи класичні методи (Чумаевская, Матвеева, 1986). Утворення пігментів враховували візуально при вирощуванні бактерій на середовищах Кінг А, Кінг Б та середовищі № 9 (Росія). Бактерії визначали у відповідності з визначником Берджі (Определитель ..., 1987).

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що березка польова переважно зустрічалася у захисних смугах, по краю поля і на польових дорогах разом з іншими видами бур'янів. У посівах сої березка росла у незначній кількості.

У відібраних зразків березки з ознаками бактеріальних уражень на листках виявлені маслянисті, кутасті або округлі плями, від світлобежевого до коричневого кольору, майже завжди без хлоротичного облямування, розміром від 1×1 до 15×5 мм (рис. 1). Розташовані по всій поверхні листка, інколи по краю у вигляді опіку. Дрібні плями зливаються, некрози стають неправильної форми. Некротизована тканина згодом розтріскується, випадає. Стебло, як правило, не уражене. Лише у зразків, зібраних у другій половині літа 2009 р., на стеблах інколи спостерігалися подовжені коричневі плями різних розмірів.

Нами проаналізовано близько 50 зразків березки польової. За бактеріологічним аналізом із уражених зразків ізолювані бактерії, частина з яких на поживному середовищі (картопляний агар) росте у вигляді колоній жовтого кольору,



Рис. 1. Бактеріальне ураження листків березки польової (природне ураження).



Рис. 2. Симптоми ураження березки польової за штучного зараження ізолятами *P. syringae*.

а частина – сірувато-білих колоній.

У ізолятів перевірені патогенні властивості відносно рослини-живителя, а у найбільш агресивних – додатково щодо сої. 2007 р. був сприятливим для прояву симптомів штучного інфікування всіх органів сої, в той час як у 2008-2010 рр., як правило, листки і стебла сої виявилися достатньо стійкими, не сприйнятливими до штучного ураження. Напевно, ці роки із сухим і спекотним літом були несприятливими для розвитку бактеріозів. В усі роки досліджень боби сої були чутливими до штучного ураження і прояви симптомів інфікування на них в умовах поля і вегетаційного будиночку були виразними.

Слід відзначити, що в 2007 р. для уражених рослин березки польової був характерний «опіковий» тип ураження листків, тобто переважно були великі бежевого забарвлення некротичні ураження уздовж жилок або по краю листової поверхні. З таких зразків березки польової ізолювали фітопатогенні бактерії з сірувато-білими колоніями. У 2008-2010 рр. ізоляти з сірувато-білими колоніями ізолювалися дуже рідко і тільки у ранні строки вегетаційного періоду до настання спеки. У пізні терміни ізолювали лише ізоляти з колоніями жовтого забарвлення. Інтенсивність забарвлення і відтінки цих колоній часто залежав від сезону і партії картопляного агару (поживного середовища), на якому культивували бактерії. У 2010 р.

ізоляти з сірувато-білими колоніями не виділялися.

Перевірка агресивності ізолятів показала, що вони характеризуються різною вірулентністю і різним ступенем агресивності відносно рослини-живителя, а також сої. За штучного ураження ізоляти з сірувато-білими колоніями на листках березки польової досить добре розвивалися, спричиняли спочатку появу водонасичених плям, які згодом некротизувалися і мали бежеве або світлокоричневе забарвлення. Вони утворювали невеликі некротичні ураження від окремих плям по всій поверхні листка до дуже великих (на  $\frac{1}{3}$  листка) уздовж прожилок (рис. 2). Останній тип ураження був найбільш характерним. На стеблах сої ці бактерії спричиняли спочатку появу водонасичених плям, які згодом охоплювали стебло. Уражені тканини стебла некротизувалися. При сильному ураженні стебла рослини надламувалися (рис. 3) і всихали. З досліджених 15 ізолятів з сірувато-білими колоніями високоагресивними виявилось п'ять ізолятів і три – слабоагресивними.

З метою ідентифікації цієї групи бактерій досліджували культуральні та фізіолого-біохімічні характеристики ізолятів. Відібрані культури на картопляному агарі утворювали сірувато-білі колонії до 5 мм у діаметрі, опуклі з конусоподібно припіднятим центром, валоподібним рівним або злегка хвилястим краєм. На м'ясо-пептонному агарі росли з утворенням



**Рис. 3.** Уражені стебла і листки сої за штучного ураження ізолятами *Curtobacterium sp.*

шовковистої каламуті, осаду, кільця, плівки і зеленувато-жовтого флуоресцентного пігменту. Пігмент проявлявся і на твердому середовищі Кінг Б. За цими та іншими фізіолого-біохімічними ознаками (таблиця) досліджувані ізоляти ідентичні бактеріям *P. syringae* pv. *syringae* 8511, *P. syringae* pv. *glycinea* 8541. Але за штучного ураження поліфагом *P. syringae* pv. *syringae* 8511 на листках березки польової навколо уколів спостерігалися лише незначні некротичні облямування. Збудник кутастої плямистості сої *P. syringae* pv. *glycinea* 8541

взагалі не уражував березку польову. Одержані дані дозволяють віднести ізольовані з березки польової фітопатогенні бактерії з сірувато-білими колоніями до виду *P. syringae*. І цілком імовірно, що вони складають окремий ще не описаний у літературі патовар.

Ізоляти бактерій з колоніями жовтого забарвлення менш агресивні порівняно з бактеріями з сірувато-білими колоніями. За штучного ураження вони спричиняли на листках переважно кутасті некрози і незначні ураження стебла березки польової. Некрози мали червонувато-коричнєве облямування, а сама некротична тканина була більш інтенсивно забарвленою порівняно з ураженням бактеріями з сірувато-білими колоніями. Високоагресивні ізоляти були патогенними відносно бобів сої, на яких спочатку розвивалися бежево-коричневі некрози, а незабаром боби всихали (рис. 4). Засохлі боби часто відпадали. З досліджених 20 ізолятів з колоніями жовтого забарвлення вірулентними виявилися 12.



**Рис. 4.** Симптоми прояву штучного ураження бобів сої бактеріями *Curtobacterium sp.*, ізольованими із березки польової.

Вірулентні бактерії з колоніями жовтого забарвлення характеризувалися такими ознаками. На картопляному агарі утворювали опуклі, округлі, з рівними краями колонії, 1-3 мм в діаметрі. Колонії непрозорі або напівпрозорі, малянистої консистенції, блискучі, забарвлені

Фізіолого-біохімічні ознаки ізолятів

Ознаки	<i>P. syringae</i> pv. <i>syringae</i> 8511	<i>P. syringae</i> pv. <i>glycinea</i> 8541	Ізоляти з сірувато- білими ко- лоніями	<i>P. agglomerans</i> Б-87	<i>C. flaccumfaciens</i> 6562	Ізоляти з жовтими колоніями
Забарвлення за Грамом	-	-	-	-	+	+
Рухливість	+	+	+	+	Сл.	Сл.
Флуоресценція	+	+	+	-	-	-
Реакція надчутливості	+	+	+	-	-	-
Використання:						
глюкози (анаеробно)	-	-	-	+	-	-
глюкози (аеробно)	+	+	+	+	-	-
лактози	-	-	-	Сл.	-	-
сахарози	+	+	+	н/д	-	-
мальтози	-	-	-	+	-	-
рафінози	+	+	+	+	-	-
галактози	+	н/д	н/д	+	-	-
дульцину	-	-	-	-	-	-
саліцину	-	-	-	+	-	-
маніту	+	+	+	+	-	-
сорбіту	-	-	-	-	-	-
рамнози	-	-	-	+	-	-
арабінози	+	-	-	+	-	-
аспарагіну	+	-	-	+	-	-
аргініну	+	+	+	н/д	-	-
аланіну	+	+	+	н/д	-	-
валіну	-	-	-	-	-	-
Наявність оксидази	-	-	-	-	-	-
Утворення H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	-
Утворення індолу	-	-	-	-	-	-
Відновлення нітратів	-	-	-	-	-	-
Розрідження желатину	+	-	X	+	Сл.	-
Молоко	П	П	П	П	-	-*
Лакмусова сироватка	Л	Л	Л	Л	-	-
Денітрифікація	-	-	-	-	-	-

**Примітка:** «+» – позитивна реакція; «-» – негативна реакція; Сл. – ознака слабо виражена; X – штамова варіабельність; П – пептонізація; Л – утворення луку; «\*» – утворення жовтої плівки; н/д – не досліджували.

від блідо-жовтого до рожеувато-жовтого кольору. Бактерії грампозитивні, короткі палички, в мазках розташовувалися поодинокі, парами, інколи V-подібно, утворювали сіточку. Мало-рухливі. Не утворювали спор і додаткових піг-

ментів на середовищах Кінг А, Б і № 9. На МПБ – дуже слабка каламуть, незначний, в'язкий осад. Бактерії не відновлювали нітрати, не утворювали сірководень та індол, були інертними на середовищах з різними джерелами ву-

## БАКТЕРІАЛЬНІ ЗАХВОРЮВАННЯ

глецевого живлення (таблиця). За своїми ознаками вони відрізнялися від жовтозабарвлених бактерій виду *P. agglomerans*, які нещодавно були причиною масового захворювання колекційних і виробничих посівів сої в с. Чабани (Житкевич, Жмурко, 2004), де відбирали зразки березки польової. Вид *X. campestris* (рв. *convolvulia*), описаний у літературі як збудник плямистості листя березки польової, за своїми ознаками (Определитель ..., 1987) не ідентичний ізольованим нами. Найближче бактерії підходять до роду *Curtobacterium*, але ж референтний штам *C. flaccumfaciens* 6562 – представник єдиного виду фітопатогенів цього роду – не уражував березку польову і був високоагресивним до рослини-живителя – квасолі, тобто, можливо, це ще не описаний вид фітопатогенів цього роду.

Таким чином, нами виявлено бактеріальні захворювання березки польової у посівах сої та ізольовані їх збудники – *P. syringae* і *Curtobacterium* sp. Ізольовані фітопатогени за штучного інфікування уражують також і сою, тобто вони не є вузькоспеціалізованими. Серед ізольованих бактерій три ізоляти не інфікували сою, ці ізоляти потребують детальнішого вивчення їх спеціалізації.

## ЛІТЕРАТУРА

- Бойко П., Коваленко Н.П., Шаповал І.С. Стратегія сівозмін, обробітку ґрунту і рівня удобрення у контролюванні бур'янів // Рослини-бур'яни: особливості біології та раціональні системи їх контролювання в посівах сільськогосподарських культур. – К.: Колоб'іг, 2010. – С. 11-16.
- Борона В.П., Карасевич В.В., Задорожний В.С. та ін. Інтегрований захист посівів від бур'янів у короткоротаційних сівозмінах // Рослини-бур'яни: особливості біології та раціональні системи їх контролювання в посівах сільськогосподарських культур. – К.: Колоб'іг, 2010. – С. 23-30.
- Житкевич Н.В., Жмурко Л.Г. Розповсюдження бактеріальних захворювань сої у Київській області. // X з'їзд Товариства мікробіологів України. Тези доповідей. – Одеса. 2004. – С. 275.
- Іващенко О.О. Герботологія – погляд у майбутнє // Рослини-бур'яни: особливості біології та раціональні системи їх контролювання в посівах сільськогосподарських культур. – К.: Колоб'іг, 2010. – С. 3-10.
- Косолап М.П. Герботологія. – К.: Арістей, 2004. – 364 с.
- Определитель бактерий Берджи / Ред. Дж. Хоулт и др.: пер. с англ. – М.: Мир, 1987. – Т. 1. – 432 с.
- Чумаевская М.А., Матвеева Е.В. Методические указания по изоляции и идентификации фитопатогенных бактерий. – М.: ВАСХНИЛ, 1986. – 39 с.
- Чумаков А.Е., Минкевич И.И., Власов Ю.И., Гаєрлова Е.А. Основные методы фитопатологических исследований. – М.: Колос, 1974. – 192 с.
- Aysan Y., Uygur S. Epiphytic survival of *Pseudomonas viridiflava*, causal agent of pith necrosis of tomato on weeds in Turkey // J. Plant Pathol. – 2005. – V. 87. – P. 135-139.
- Bogatzevska N. Epiphytic survival of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* on symptoms soybeans weeds // 5<sup>th</sup> International Conference on *Pseudomonas syringae* Pathovars and Related Pathogens. Book of Abstracts. – Berlin, Germany, 1995. – P. 65.
- Bogatzevska N. Natural epiphytic survival *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* on weeds // 5<sup>th</sup> International Conference on *Pseudomonas syringae* Pathovars and Related Pathogens. Book of Abstracts. – Berlin, Germany, 1995. – P. 66.
- Bradbury J.F. Guide to plant pathogenic bacteria – CAB International, 1986. – 216 p.
- Leksomboon C., Thaveechai N., Kositratana W. Bacterial leaf spot of Chinese convolvulus (*Ipomoea aquatica*) // 29<sup>th</sup> Kasetsart University Annual Conference (Bangkok, Thailand, 04-07.02.1991). – Bangkok, Thailand, 1991. – TH9621157.
- Morin L., Watson A.K., Reeleder R.D. Efficacy of *Phomopsis convolvulus* for control of field bindweed (*Convolvulus arvensis*) // Weed Sci. – 1989. – V. 37. – P. 830-835.
- Ormeno-Nunez J, Reeleder R.D. Watson A.K. A foliar disease of field bindweed (*Convolvulus arvensis*) caused by *Phomopsis convolvulus* // Plant Disease. – 1988. – V. 72. – P. 338-343.

Надійшла до редакції  
30.08.2010 р.

## **БАКТЕРІАЛЬНІ ЗАХВОРЮВАННЯ**

### **BACTERIAL DISEASES OF *CONVOLVULUS ARVENSIS* L. IN CROPS OF *GLYCINE MAX* (L.) MERR. AND THEIR INFESTANTS**

L. M. Yakovleva, T. M. Zakharchenko, T. M. Shcherbina, V. P. Patyka

*D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology  
of National Academy of Science of Ukraine  
(Kyiv, Ukraine)*

Phytopathogenic bacteria were isolated and identified as the *Pseudomonas syringae* and *Curtobacterium* sp. from the necrotic defeats of leaves of field bindweed (*Convolvulus arvensis* L.). Under the conditions of artificial infection bacteria caused necroses on the leaves and stems of field bindweed, and also on leaves, stems and bobs of soy. Three isolates of bacteria did not cause the infection of soya (*Glycine max* (L.) Merr.) plants.

**Key words:** *Convolvulus arvensis* L., *Glycine max* (L.) Merr., *Pseudomonas syringae*, *Curtobacterium* sp., phytopathogenic bacteria

### **БАКТЕРИАЛЬНЫЕ БОЛЕЗНИ *CONVOLVULUS ARVENSIS* L. В ПОСЕВАХ *GLYCINE MAX* (L.) MERR. И ИХ ВОЗБУДИТЕЛИ**

Л. М. Яковлева, Т. Н. Захарченко, Т. Н. Щербина, В. Ф. Патыка

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного  
Национальной академии наук Украины  
(Киев, Украина)*

Из некротических поражений листьев вьюнка полевого (*Convolvulus arvensis* L.) изолированы фитопатогенные бактерии, идентифицированные как *Pseudomonas syringae* и *Curtobacterium* sp.. При искусственном заражении бактерии вызывали развитие некрозов на листьях и стеблях вьюнка полевого, а также на листьях, стеблях и бобах сои (*Glycine max* (L.) Merr.). Обнаружено три изолята бактерий, которые не поражали сою.

**Ключевые слова:** *Convolvulus arvensis* L., *Glycine max* (L.) Merr., *Pseudomonas syringae*, *Curtobacterium* sp., фитопатогенные бактерии