

УДК 579.6

ЧИСЕЛЬНІСТЬ ЗБУДНИКІВ БАКТЕРІАЛЬНОГО РАКУ ВИНОГРАДУ У ІНФІКОВАНОМУ РОСЛИННОМУ МАТЕРІАЛІ

І. І. Маринова¹, Н. В. Коротаєва²

^{1,2} Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, 65082, Одеса, Україна

Бактеріальний рак залишається проблемою для виноградарства України. Захворювання носить системний характер. Збудники бактеріального раку – *Agrobacterium vitis* та *Agrobacterium tumefaciens* (за новою номенклатурою – *Rhizobium vitis* та *Rhizobium radiobacter* [9]) поширюються по судинам винограду, і рослина є джерелом інфекції навіть за відсутності симптомів.

Симптоми спричиненої хвороби (бактеріальний рак) – це утворення пухлин на стеблах і коренях інфікованих рослин, що призводить до нестачі живильних речовин та постачання води [1]. Патогенез бактеріального раку є унікальним і включає переніс частини Ті-плазмиди *A. tumefaciens* у хромосому рослини [2]. У результаті клітини рослин починають продукувати підвищену кількість гормонів, що веде до неконтролюємої проліферації тканин [5], та синтезувати незвичні сполуки опіни – похідні від цукрів та особливих амінокислот, що використовуються бактеріями як джерела живлення [3, 4].

Метою дослідження було визначення чисельності збудників бактеріального раку у тканинах уражених рослин.

Мікроорганізми для дослідження виділяли зі здерев'янілих пагонів винограду за методом Я. Лехоцьки, для чого лозу мили, фламбували, нарізали на фрагменти 5 мм товщиною, заливали фізичним розчином і поміщали на добу у холодильник при 4°C [6].

Отриману суспензію висівали на середовище Рой і Сасера. Склад середовища Рой і Сасера (г/л): адонітол – 4,00; дріжджовий екстракт – 0,14; борна кислота – 1,00; MgSO₄ – 0,20; K₂HPO₄ – 0,90; KH₂PO₄ – 0,70; NaCl – 0,20; «Браво» (фунгіцид – хлороталоніл – 4,00; агар-агар – 15,00. рН середовища – 7,2. Після автоклавування при 1 атм і зменшення температури до 50 °С додавали трифенілтетразоліума хлорид (0,08 г/л) [7].

Усього було досліджено шість зразків інфікованого винограду сорту Аркадія.

За даними літератури, концентрація пухлиноутвірних бактерій роду *Rhizobium* у судинах пагонів винограду складає від 4 x 10² кл/г [8] до 15,4 x 10³ кл/г [6]. Для того, щоб обрахувати чисельність ризобій у дослідних зразках, підраховували колонії характерної морфології: великі (3–5 мм у діаметрі), слизові, білі, з рожевою серединою.

Дослідження чисельності мікроорганізмів, які виростили при посівах суспензій на середовище Рой і Сасера показало, що кількість ризобієподібних колоній (слизових, з червоним або рожевим центром) відрізнялася в залежності від дослідженого зразка і становила від $5,0 \times 10^5$ до $(1,0 \pm 0,4) \times 10^8$ КУО/мл. У одному зі зразків патогенних ризобій взагалі виявлено не було.

Таку різницю у чисельності можна пояснити нерівномірним розподілом агробактерій у різних частинах рослин, які призначалися для аналізу. Так, відомо, що найбільша чисельність збудників бактеріального раку спостерігається у частинах здерев'янілих пагонах, розташованих ближче до штамбу [1]. Перезимовують агробактерії у кореневій системі куща винограду, а з потеплінням пересуваються з током ксилемної рідини у верхні пагони, отже, найбільша вірогідність виділення збудника є з використанням для аналізу найближчих до штамбу пагонів.

Отримані нами результати вказують на особливість розподілу агробактерій у рослинах винограду, що культивується на півдні України.

Література

1. Burr T.J. Crown gall of grape: biology and disease management / T. J. Burr, L. Otten // Annual Review Phytopathology. – 1999. – Vol. 37. – P. 53–80.
2. Stable incorporation of plasmid DNA into higher plant cells: the molecular basis of crown gall tumorigenesis / M.-D. Chilton, M. H. Drummond, D. J. Merlo [et al.] // Cell. – 1977.– Vol. 11. – P. 263–271.
3. Grapevine crown gall suppression using biological control and genetic engineering: a review of recent research / A. Filo, P. Sabbatini, G. W. Sundin [et al.] // American Journal of Enology and Viticulture. – 2013. – Vol. 64. – P. 1–14.
4. Agropine in «null-type» crown gall tumors: evidence for the generality of the opine concept / P. Guyon, M. D. Chilton, A. Petit, J. Tempe // Proc Natl Acad Sci USA. – 1980. – Vol. 77. – P. 2693–2697.
5. Genetic analysis of the individual T-DNA genes of *Agrobacterium tumefaciens*: further evidence that two genes are involved in indole-3-acetic acid synthesis / D. Inzé, A. Follin, M. van Lijsebettens [et al.] // Molecular and General Genetics. – 1984. – Vol. 194. – P. 265–274.
6. Lehoczy J. Further evidences concerning the systemic spreading of *Agrobacterium tumefaciens* in the vascular system of grapevines / J. Lehoczy // Vitis. – 1971. – Vol. 10. – P. 215–221.
7. Roy M. A medium selective for *Agrobacterium tumefaciens* biovar 3 / M. Roy, M. Sasser // Phytopathology. – 1983. – Vol. 73. – P. 810.
8. Szegedi E. Detection of *Agrobacterium vitis* by polymerase chain reaction in grapevine bleeding sap after isolation on a semiselective medium / E. Szegedi, S. Bottka // Vitis. – 2002. – Vol. 41, № 1. – P. 37–42.

9. A revision of *Rhizobium* Frank 1889, with an emended description of the genus, and the inclusion of all species of *Agrobacterium* Conn 1942 and *Allorhizobium undicola* de Lajude et al. 1998 as new combinations: *Rhizobium radiobacter*, *R. rhizogenes*, *R. rubi*, *R. undicola* and *R. vitis* / J. M. Young, L. D. Kuykendall, E. Martinez-Romero [et al.] // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2001. – Vol. 51. – P. 89–103.