

УДК 632

**К ВОПРОСУ О ПОЯВЛЕНИИ В КРЫМУ ФИТОПЛАЗМЕННОЙ БОЛЕЗНИ
ВИНОГРАДА «BOIS NOIR»**
ON THE ISSUE OF APPEARANCE IN THE CRIMEA OF GRAPES' PHYTOPLASMA
DISEASE «BOIS NOIR»

Кастальева Т.Б., Гирсова Н.В.
Kastalyeva T.B., Girsova N.V.

**Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии,
Московская область, Россия**
All Russian Research Institute of Phytopathology, Moscow Region, Russia

*E-mail: kastalyeva@vniif.ru

ABSTRACT

It is assumed that the disease “bois-noir” was entered into the territory of Crimea, where it was discovered in 2012, together with planting material – seedlings of new grapevine varieties from Italy. Supplier of seedlings, «Vitavi Cooperativi Rauscedo» (VCR), denies the possibility of introduction of infectious agent with their planting material. To understand the cause of phytoplasma infection on grapevines, relationships in integrated system: cultivated plants – weeds (and other sources of phytoplasmas) – vectors (insects of order Hemiptera) should be studied. To recognize molecular structure of phytoplasma isolates causing bois noir of grapevine with a view to their more detail classifications, analysis of appropriate nonribosomal genes such as *tuf* gene, *secY*, *vmp1* and *stamp* genes is necessary.

KEY WORDS

Grapevine, phytoplasma disease, stolbur, “bois-noir”, nonribosomal genes.

К числу наиболее распространенных и вредоносных болезней винограда относятся желтухи, вызываемые фитоплазмами. Фитоплазмы – это бактерии, лишенные клеточной стенки. Они паразитируют в клетках флоэмы растений и переносятся флоэмнопитающимися насекомыми из отряда Hemiptera, подотряда Auchenorrhyncha (сем. *Aphrophoridae*, *Cercopidae*, *Cicadellidae*, *Cixiidae*, *Delphacidae*, *Dictyopharidae* и др.) и Sternorrhyncha (*Psyllidae* и др.). Внутри семейства некоторые виды являются переносчиками, другие – нет. Не все особи и виды, в которых выявлена фитопlasма, могут быть компетентными переносчиками [1].

Наиболее важные фитоплазменные болезни в основных районах возделывания винограда в Европе – это золотистое пожелтение “flavescence dorée” (FD) и почернение древесины “bois noir” (BN). Обе болезни распространены в одних и тех же европейских виноградарских странах, но золотистое пожелтение – карантинный объект [2, 3]. В России это заболевание, вызываемое фитоплазмой, принадлежащей к группе 16SrV, пока не выявлено. Почернение древесины связано с фитоплазмой из группы столбура, подгруппы 16SrXII-A – *Candidatus Phytoplasma solani*, симптомы которой неотличимы от золотистого пожелтения. Это заболевание переносится в природе на виноград с вьюнка полевого (*Convolvulus arvensis* L.), повоя заборного (*Calystegia sepium* L., R.BR.) и крапивы двудомной (*Urtica dioica* L.) или инфицированного посадочного материала циксиидой *Hyalesthes obsoletus* Sign.[4, 5].

Болезнь растений под названием «столбур» известна в нашей стране с начала 1930-х годов. Впервые название «столбур» стали употреблять в Крыму по отношению к заболеванию томатов, вызывавшему одревеснение плодов. Само слово «столбур» – это искаженное украинское «стовбур» в значении «ствол дерева, одревеснение». В 1934 году была доказана инфекционная природа заболевания передачей его с больного растения на здоровое путем прививки [6]. Несмотря на это еще долгое время многие исследователи пытались увязать причину заболевания с различными

абиотическими факторами. В 1945 г. был установлен переносчик столбура – насекомое из отряда Hemiptera сем. Cixiidae – *Hyalesthes obsoletus* Sign. [7]. В дальнейшем заболевание было обнаружено и на других пасленовых культурах, включая картофель. Слово «столбур» (Stolbur) вошло в научный оборот и стало использоваться во всем мире для обозначения болезни, вызываемой фитоплазмами, принадлежащими к группе 16SrXII – по классификации, разработанной на основе анализа консервативного гена, кодирующего 16S рибосомальную РНК.

Болезнь винограда “bois noir” (почернение древесины), связанная с фитоплазмой группы 16SrXII, подгруппы “А” (видовое название – *Candidatus Phytoplasma solani*, данное по названию семейства растения, на котором она впервые была обнаружена) широко распространено во всем мире. Это дало основание предполагать, что внутри подгруппы на генетическом уровне существуют различия, которые могут быть связаны с географическим распространением, промежуточными растениями-хозяевами и переносчиками.

Высоко консервативный 16S рДНК ген, широко используемый для обнаружения фитоплазмы группы столбура, не подходит для детального изучения генетического разнообразия и филогенетических взаимосвязей изолятов, а также взаимоотношений между изолятами и хозяном и географическим распределением, поскольку генетическая изменчивость внутри подгруппы столбура, которую обнаруживают на основании ПДРФ анализа этого гена очень низкая [8]. В то же время сообщения о наличии различий в размере генома давали основание усомниться в гомогенности представителей группы столбура [9, 10]. Поэтому для получения информации о молекулярной изменчивости изолятов фитоплазмы столбура, вызывающей болезни винограда, других сельскохозяйственных культур и диких видов растений исследователи стали использовать нерибосомные гены, которые лучше подходят для дифференциации и классификации близко родственных фитоплазм в виду своей большей вариабельности [11, 12]. Обычно анализируют 4 гена, два из них – это гены домашнего хозяйства (housekeeping gene): *tuf* ген и *secY* ген.

Показатель генетического разнообразия столбура значительно увеличивается, если также проводить анализ гена *vmr1*, кодирующего мембранный белок. Считают, что изменчивость *vmr1* может быть результатом расположения белка на поверхности клеток, вследствие чего он может играть определенную роль во взаимодействиях фитоплазмы с хозяином и переносчиком. На основании ПЦР/ПДРФ анализа с использованием *Rsa I* рестриктазы было идентифицировано 23 генотипа *vmr1* [13]. Секвенирование *stamp* гена, кодирующего антиген мембраны, позволяет дифференцировать еще большее разнообразие генотипов *Ca. Ph. solani* [13].

Как уже указывалось, столбур культурных и диких растений известен в Крыму с 1930-х годов, однако он обнаруживался, как правило, на травянистых растениях. Впервые на винограде почернение древесины было отмечено в 2012 году сотрудниками отдела защиты и физиологии растений Национального НИИ винограда и вина «Магарач» [14, 15]. В последующие годы число выявленных пораженных виноградников значительно увеличилось. Наличие характерных симптомов болезни было подтверждено результатами лабораторного анализа с использованием ПЦР (г. Одесса, Украина). Все инфицированные участки были посажены интродуцированным из разных европейских стран посадочным материалом. Поставщик саженцев «Vitavi Cooperativi Rauscedo» (VCR) отрицает возможность заноса инфекционного агента с их посадочным материалом. Такая ситуация означает, что выявление распространенности фитопатогенов фитоплазменной природы в Южнобережной зоне виноградарства Крыма требует анализа не только консервативных рибосомальных генов, но и других, более вариабельных генов, о которых сказано выше. При этом важно проводить анализ этих генов как в культуре виноградной лозы, так и в растениях-резервуарах, произрастающих в той же местности, будь то травянистые растения или кустарники и даже деревья, а также в насекомых-переносчиках. Для решения проблемы эпидемиологии болезни винограда «почернение древесины» необходимо комплексное изучение взаимоотношений в системе: культурные растения-

хозяева – сорные растения как основные резерваторы инфекции (а также растения, на которых питаются насекомые-переносчики, находясь в личиночной стадии) – переносчики (насекомые из отряда Hemiptera).

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Weintraub P., Wilson M. Control of phytoplasma diseases and vectors. In Weintraub, G., Jones, P. (eds). *Phytoplasmas-Genomes. Plant Hosts and Vectors*. CABI, London, UK, 2010. P. 233-249.
2. Bertaccini, A., Vibio, M. and Stefani, E. Detection and Molecular Characterization of Phytoplasmas Infecting Grapevine in Liguria (Italy). *Phytopathologia Mediterranea*. 1995. Vol. 34. P. 137-141.
3. Daire, X., Clair, D., Reinert, W. and Boudon-Padieu, E. Detection and Differentiation of Grapevine Yellow's Phytoplasmas Belonging to the Elm Yellow's Group and to the Stolbur Subgroup by PCR Amplification of Nonribosomal DNA. *European Journal of Plant Pathology*. 1997. Vol.103. P. 507-514. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1008641411025>
4. Martini, M., Murari, E., Mori, N. and Bertaccini, A. Identification and Epidemic Distribution of Two Flavescence Dorée-Related Phytoplasmas in Veneto (Italy). *Plant Disease*. 1999. Vol. 83. P. 925-930. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.10.925>.
5. Sforza, R., Clair, D., Daire, X., Larrue, J. and Boudon-Padieu, E. The Role of *Hyalesthes obsoletus* (Hemiptera: Cixiidae) in the Occurrence of Bois Noir of Grapevines in France. *Journal of Phytopathology*. 1998. Vol. 146. P. 549-556. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0434.1998.tb04753.x>
6. Рыжков В.Л., Корачевский И.К. Вирусные болезни помидоров в опытах по искусственному заражению. В сб.: Вирусные болезни в Крыму и на Украине / Под ред. В.Л. Рыжкова. Симферополь, 1934: 7-30.
7. Сухов К.С., Вовк А.М. Цикадка *Hyalesthes obsoletus* Sign., переносчик столбура пасленовых. Доклады АН СССР. 1946. 53 (2): 153-156.
8. Marcone, C.; Lee, I. M.; Davis, R. E.; Ragozzino, A.; Seemuller, E. Classification of aster yellows-group phytoplasmas based on combined analyses of rRNA and tuf gene sequences. *Int. J. Syst.Evolut. Microbiol.* 2000. Vol. 50. P.1703-1713.
9. Marcone, C., Neimark, H., Ragozzino, A., Lauer, U., Seemuller, E. Chromosome sizes of phytoplasmas composing major phylogenetic groups and subgroups. *Phytopathology*. 1999: Vol. 89. P. 805-810.
10. Schneider, B.; Marcone, C.; Kampmann, M.; Ragozzino, A.; Lederer, W.; Cousin, M. T., Seemuller E. Characterization and classification of phytoplasmas from wild and cultivated plants by RFLP and sequence analysis of ribosomal DNA. *Eur. J. Plant Pathol.* 1997. Vol.103. P. 675-686.
11. Schneider B., Gibb K. S., Seemüller E. Sequence and RFLP analysis of the elongation factor Tu gene used in differentiation and classification of phytoplasmas. *Microbiology*. 1997. Vol 143. P. 3381-3389.
12. Langer, M., Maixner, M. Molecular Characterisation of Grapevine Yellow's Associated Phytoplasmas of the Stolburgroup Based on RFLP-Analysis of Non-Ribosomal DNA. *Vitis*. 2004. Vol. 43. P. 191-199.
13. Foissac X., Carle P., Fabre A., Salar P., Danet J.L., Ember I., Della Bartola M., Plavec J., Avramov Z., Mortada C. et al. Candidatus *Phytoplasma solani* genome project and genetic diversity in the Euro-Mediterranean basin. Proceedings of the 3rd European Bois Noir Workshop, Barcelona, Spain, 20-21 March 2013, 11-13.
14. Борисенко М.Н., Алейникова Н.В., Галкина Е.С., Радионовская Я.Э. Фитосанитарное состояние виноградных насаждений Крыма. Защита и карантин растений. 2015. № 6. С.21-26.
15. Алейникова Н.В., Радионовская Я.Э. Интродуцированный посадочный материал – источник фитоплазменной инфекции на виноградниках Крыма. Защита и карантин растений. 2015. № 9. С. 31-33.