

## МІКОПЛАЗМОЗИ РОСЛИН ТА ЇХ СЕРОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА

*І.П. Токовенко,*

*кандидат  
біологічних наук*

*В.П. Патица,*

*академік НААН,  
доктор біологічних наук*

*Інститут  
мікробіології  
і вірусології  
ім. Д.К. Заболотного  
НАН України*

**Мета.** Установити можливість використання реакції зв'язування комплементу (РЗК) для інтенсифікації та діагностики фітопатогенних штамів мікоплазм. **Методи.** Для розподілу за антигенними властивостями мікоплазм, виділених із різних інфікованих ними рослин, використано реакцію зв'язування комплементу. **Результати.** Показано, що паразитування мікоплазм на різних рослинах не є обов'язковою умовою їх серологічної відокремленості. **Висновки.** РЗК є перспективною методикою для попередньої ідентифікації та діагностики фітопатогенних мікоплазм.

**Ключові слова:** мікоплазмози, фітомікоплазми, антигенні властивості, специфічність, зетерогенність, серотипи, комплементзв'язувальні детермінанти.

Вибухова еволюція патогенів охопила всю біосферу. Це пов'язано з її особливостями: вона відбувається за всіма напрямками, але реалізується там, де для неї відкривається вільна ніша. Через те, що біосферні контрольні механізми вже не діють, вона є відкритою нішею для поширення (по висхідній) і основою еволюційного вибуху інфекцій. На жаль, до полігонів еволюції належить і Україна, зокрема, і за поширенням мікоплазмозних інфекцій [9].

Сучасні масштаби вибухової еволюції патогену планети змушують поставити пріоритетну мету — безумовне збереження наявних природних систем та їх різноманітності, особливо мікробіому. Сукупність біологічної маси мікроорганізмів (біом і метагеном), особливо ґрунту, важлива тому, що в ній зосереджено 95% усього пулу мікроорганізмів, майже стільки ж, як і багатоклітинних організмів. Від життєвої активності мікроорганізмів залежать усі вищі живі істоти як в позитивному, так і негативному розумінні [5, 7].

Мікоплазмози завдають великої шкоди рослинництву. Втрати врожаю від мікоплазмозних хвороб за сприятливих для збудників умов досягають понад 25%. Нині відомо понад 70 захворювань рослин, дія яких доведено мікоплазмозу природу [3, 4, 8].

Найпоширеніші мікоплазмозні хвороби рослин: стовбур томатів, карликовість кукурудзи, жовта карликовість рису, побіління листя цукрової тростини, блідо-зелена карликовість (БЗК) зернових, філодія конюшини, відьмині

мітли люцерни, жовтуха барвінку, карликовість шовковиці, проліферація яблуні та ін. Найбільшу шкоду врожаю сільськогосподарських рослин завдають такі захворювання: БЗК зернових, проліферація яблуні і стовбур томатів [3, 8]. Під час епіфітотії відбувається масове ураження стовбуром не лише томатів, а й перцю, картоплі та меншою мірою — баклажанів. До того ж вражаються всі органи рослин, у результаті чого інфіковані рослини в'януть і гинуть. Однією з найшкочочинніших хвороб рослин є також БЗК пшениці, яка призводить до 60–80% втрат урожаю, мікоплазмозне захворювання проліферація яблуні — до зниження врожаю на чутливих сортах на 50–87%. Враховуючи значне поширення мікоплазмозів та їх шкодочинність для сільськогосподарських рослин, постає питання щодо способів попередження втрат врожаю від цих патогенів [1, 10].

Важливою і необхідною передумовою запобігання поширенню мікоплазмозної інфекції та подальших втрат врожаю є своєчасна ідентифікація і діагностика цих збудників.

Одним з основних і першочергових серологічних методів для ідентифікації антигенів мікоплазм є застосування реакції зв'язування комплементу (РЗК), яка дає змогу використовувати цю реакцію не лише для ідентифікації мікоплазм, а й також для діагностичних цілей [11]. РЗК найпоширеніша в серології мікоплазма інфекцій тварин і людини, для їх ідентифікації і диференціювання [2, 6, 11, 12].

**1. Походження виділених штамів фітопатогенних мікоплазм**

Номер штаму	Джерело виділення	Захворювання, за якого виділено штам
51, 66, 84, 118	Пшениця	Блідо-зелена карликовість зернових (БЗК)
103	Овес	БЗК
153	Ячмінь	»
141	Кукурудза	»
13	Конюшина	Філодія
15, 82	Смородина	Реверсія
101, 102, 178	Томати	Стовбур
173	Яблуня	Проліферація

**Мета досліджень** — визначення можливості використання РЗК для ідентифікації та діагностики фітопатогенних мікоплазм.

**Методика досліджень.** Використано реакцію зв'язування комплекменту.

**Результати досліджень.** За добору штамів фітопатогенних мікоплазм як антигенів для імунізації кролів враховували їх походження (табл. 1).

У результаті проведення порівняльного аналізу антигенних взаємодій фітопатогенних мікоплазм з референтними штамми в РЗК установлено, що всі виділені штамми відрізняються імуногенністю, про що свідчать титри одержаних до них сироваток (табл. 2). Під час вивчення антигенних властивостей штамів фітомікоплазм у РЗК установлено, що окремі штамми мають досить складну антигенну структуру і у ряді випадків титри реакцій збігаються з гомологічними

титрами. Так, установлено, що штамми фітопатогенних мікоплазм 13, 15, 66, 84 і 118 у РЗК мали достатньо високі титри з більшістю одержаних сироваток, що свідчить про наявність у них спільних комплементзв'язувальних антигенів. У тому разі, коли не вдавалося одержати сироваток, які б реагували у високих титрах у гомологічній системі РЗК (сироватки до штамів 51, 82 і 173), такі сироватки специфічніше реагували в гетерологічній системі, оскільки спостерігалася менша кількість перехресних реакцій (див. табл. 2).

Отже, використання в гетерологічних системах сироваток з вищими титрами дає змогу виявити більшу кількість спільних антигенів, які реагують у РЗК як видоспецифічні.

Під час постановки перехресних РЗК між штамми мікоплазм, які використовували для імунізації кролів, і одержаних до них сироваток виявлено антигенні взаємозв'язки між окремими штамми фітопатогенних мікоплазм. Установлено, що паразитування мікоплазми на різних рослинах не є обов'язковою умовою їх чіткого антигенного відмежування, оскільки штамми мікоплазм, виділених з різних рослин, у РЗК наводяться як тотожні або дуже близькі в антигенному відношенні. У разі використання тих самих сироваток, але зі штамми, до яких сироватки не були одержані, виявлено низькі титри в РЗК (див. табл. 2). Особливо слід виділити сироватки до штамів 51 і 173, які в більшості випадків не реагували з іншими штамми фітомікоплазм або реагували лише з деякими з них у низьких титрах. Однак антигени згаданих вище штамів реагували з іншими сироватками достатньо часто і в достатньо високих титрах.

**2. Антигенні властивості штамів фітопатогенних мікоплазм у РЗК**

Сироватка і її титр	Штам															
	FH	PG8	51	66	84	118	103	153	141	13	15	82	101	102	178	173
<i>M. pneumoniae</i> FH	■			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
<i>A. laidlawii</i> PG8		■			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
51, 1:64			■													
66, 1:128				■												
84, 1:128					■											
118, 1:512						■										
103, 1:256							■									
13, 1:128								■								
15, 1:256									■							
82, 1:256										■						
173, 1:64											■					

Примітка: ■ — 1:1; ■ — 1:2; ■ — 1:4; ■ — 1:8 гомологічного ряду.

Це свідчить про те, що штами 51 і 173 не можуть бути повністю охарактеризовані в РЗК через низькі титри в гомологічній системі.

Отже, специфічність РЗК під час вивчення фітомікоплазм з використанням високоактивних імунних сироваток підвищується зі збільшенням її чутливості. Водночас у РЗК виявлено спільні антигени, які не дають змоги розмежувати фітомікоплазми на штамовому і видовому рівнях, однак є можливість диференціації їх на рівні роду та сімейства. Так, виділені штами фітомікоплазм у переважній більшості є представниками сімейства *Acholeplasmataceae*, а не *Mycoplasmataceae*.

Наявність в окремих штамів великої кількості перехресних реакцій пояснюється лише різноманіттям їх антигенів, у складі яких є багато спільних з іншими штамми комплексів зв'язувальних детермінант.

Отже, за інтенсивністю РЗК, кількістю

реакцій у найвищому титрі в гетерологічних системах і відмінностями у складі антигенів групи штамів можна розділити на 4 серотипи: I — штами 51, 66, 84, 118, 103, 153, 141; II — 101, 102, 178; III — 13, 82; IV — штама 173. За своїми антигенними властивостями представники перших двох серотипів належить до типових ахолоплазм з певною спеціалізацією до рослин-живителів. Це означає, що до захворювань БЗК зернових і стовбур томатів може призводити один збудник, але різні його серотипи, специфічні для кожного захворювання. Так, представники I серотипу паразитують в основному на зернових, II — є збудниками стовбура томатів. Водночас представники I і II серотипів — одного виду. Наявність серологічної спорідненості у штамів III серотипу свідчить про те, що такі захворювання, як філодія конюшини, реверсія смородини у різних рослин можуть бути зумовлені одними і тими самими або спорідненими збудниками.

## Висновки

*РЗК є перспективною методикою для попередньої ідентифікації та діагностики фітопатогенних мікоплазм, яку можна використовувати для епідеміологічних*

*досліджень збудників мікоплазмозів рослин. Використання РЗК є першим і необхідним кроком для запобігання поширенню мікоплазмової інфекції як в Україні, так і за її межами.*

## Бібліографія

1. *Адаптація мікоплазм к неблагоприятным условиям роста: нанотрансформация и фитопатогенность Acholeplasma laidlawii PG8/B.M.* Чернов, Н.Е. Мухаметшина, Ю.В. Гоголев и др.//Доклады РАН. — 2007. — С. 271–275.

2. *Антигенные особенности фитопатогенных микоплазм*/И.П. Токовенко, Л.П. Малиновская, И.Г. Скрипаль, К.С. Коробкова//Тези доповідей Міжнар. наук. конф. «Мікробіологія та імунологія — перспективи розвитку в XXI столітті»/Імунологія та алергологія. Наука і практика. — К., 10–11 квітня 2014 р. — Додаток № 1. — С. 162–163.

3. *Власов Ю.И. Микоплазменные болезни сельскохозяйственных растений*/Ю.И. Власов, З.Г. Геворкян. — Ереван, 1991. — 126 с.

4. *Микоплазмы*/С.Н. Борхсениус, О.А. Чернова, В.М. Чернов, В.М. Вонский. — СПб.: Наука, 2002. — 320 с.

5. *Патика М.В. Сучасні проблеми біорізноманітності і зміни клімату*/М.В. Патика, В.П. Патика//Вісн. аграр. науки. — 2014. — № 6. — С. 5–10.

6. *Порівняльне вивчення серологічних властивостей позаклітинних білків молікутів*/І.П. Токовенко, Л.П. Малиновська, К.С. Коробкова, І.Г. Скрипаль//

III Міжнар. наук.-практ. конф. «Сучасні проблеми біології, екології та хімії». — 11–13 травня 2012 р. — Запоріжжя. — С. 295–296.

7. *Сільськогосподарська мікробіологія і збалансований розвиток агроєкосистем*/В.Ф. Петриченко, І.А. Тихонович, С.Я. Коць та ін.//Вісн. аграр. науки. — 2012. — № 8. — С. 5–11.

8. *Скрипаль И.Г. Микоплазмы*/И.Г. Скрипаль//Микроорганизмы — возбудители болезней растений; под ред. В.И. Билай. — К., 1988. — С. 326–372.

9. *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.

10. *Чернов В.М. Феноменология микоплазменных инфекций растений*/В.М. Чернов, О.А. Чернова, И.А. Тарчевский//Физиология растений. — 1996. — Т. 43, № 5. — С. 694–701.

11. *Methods in Mycoplasmaology*/Ed. J. Tully. — New York, 1983. — V. 2. — 623 p.

12. *Wise K.S. Antigenic variation/Mycoplasmas: molecular biology and pathogenesis*/K.S. Wise, D. Yogen, R. Rosengarten//Eds. J. Maniloff et al. — Washington. — 1992. — P. 473–489.

*Надійшла 28.01.2015.*