https://doi.org/10.15407/frg2026.05.408
УДК 579.887:632.122

ВПЛИВ ШТУЧНОГО ЗАСОЛЕННЯ СЕРЕДОВИЩА ВИРОЩУВАННЯ НА ФІТОПЛАЗМОВУ ІНФЕКЦІЮ ЛЮЦЕРНИ У СИМБІОЗІ З *RHIZOBIUM MELILOTI*

К.С. КОРОБКОВА, В.П. ПАТИКА, М.А. ХАРХОТА

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного Національної академії наук України
03143 Київ, вул. Академіка Заболотного, 154,
e-mail: kkorobkova@ukr.net

З метою дослідження впливу фітоплазми *Acholeplasma laidlawii* var. *granulum* 118 на рослини люцерни за штучного засолення середовища їх вирощування в умовах мікровегетаційного досліду вивчали реакцію *Medicago sativa* (люцерна посівна) і *M. truncatula* (люцерна усічена) на морфометричні показники та вміст органічних кислот і цукрів. Також для оцінювання підвищення опірності рослин засоленню і фітоплазмовій інфекції було досліджено утворення симбіозу рослин люцерни з ефективним штамом бактерій *Rhizobium meliloti* 425a. Встановлено, що внаслідок засолення відбувається підсилення згубного впливу *A. laidlawii* var. *granulum* 118 на рослини люцерни, що потрібно враховувати за їх вирощування в умовах змін ґрунтових показників. Інокуляція рослин *R. meliloti* 425a призводить до незначного зниження ознак фітоплазмозу рослин за 50 мкМ NaCl в умовах мікровегетаційного досліду. У клітинах рослин *M. sativa* під впливом зараження *A. laidlawi* var. *granulum* 118 змінюється вміст органічних кислот і цукрів: на перших етапах взаємодії зменшується, а на пізніших — збільшується. При засоленні середовища в уражених фітоплазмою рослинах відбувається інтенсивне накопичення органічних кислот і цукрів, що пришвидшує їхню загибель. Це свідчить про підсилення негативного впливу сумарного стресу через погіршення фізіологічного стану рослин у несприятливих умовах і підтверджує зменшення толерантності рослин до фітоплазми як наслідок засолення середовища вирощування.

***Ключові слова*:** *Medicago*, *Rhizobium*, засолення, фітоплазма, органічні кислоти, цукри.

Останніми роками кліматичні зміни, як і антропогенний вплив, і воєнний стан, ускладнюють агровиробництво у різних регіонах України. Постає проблема зі зрошенням у раніше нетипових регіонах, що може призводити до неконтрольованого засолення ґрунтів. Таке явище знижує ефективність звичайних агротехнологій при вирощуванні сільськогосподарських культур. За несприятливих умов змен-

Цитування: Коробкова К.С., Патика В.П., Хархота М.А. Вплив штучного засолення середовища вирощування на фітоплазмову інфекцію люцерни у симбіозі з *Rhizobium meliloti*. *Фізіологія рослин і генетика*. 2026. 58, № 5. С. 408—419. https://doi.org/10.15407/frg2026.05.408

This is open access article under the CC BY license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

шення опірності рослин здатне підвищувати частку фітопатогенних мікроорганізмів та їхню агресивність. Одним з негативних наслідків таких змін є не лише збільшення шкідливості наявних типових фітопатогенів, а й розповсюдження нових збудників хвороб культурних рослин. Особливого значення набуває пошук засобів контролювання цих процесів і вивчення особливостей взаємодії рослина—патоген як за дії абіотичних чинників, так і за умов підвищення ефективності природних захисних механізмів рослинного організму.

Істотним викликом сучасного виробництва кормів є подолання дефіциту рослинного білка. В умовах, що склалися в Україні внаслідок воєнних дій, відбувається значне скорочення посівних площ не лише під традиційні зернові й технічні, а й під кормові сільськогосподарські культури, що негативно позначається на розвитку галузі тваринництва. Бобові трави здатні відновлювати деградовані ґрунти завдяки фіксації атмосферного азоту в симбіозі з бульбочковими бактеріями, який надалі залишається у родючих шарах ґрунту. Для створення стабільної кормової бази тваринництва найперспективнішою і продуктивною бобовою культурою вважають *Medicago sativa* (люцерну посівну). Проте за певних умов також використовують *M. truncatula* (люцерну усічену) — однорічний вид люцерни зі здатністю до самозапилення. Оскільки відмінними рисами цієї культури є диплоїдний геном і короткий термін вегетації, її також використовують як модельний об'єкт для вивчення росту, розвитку бобових рослин, засад їх опірності абіотичним стресам, а також специфічності взаємодії із бактеріями-мікросимбіонтами і патогенними організмами [1, 2].

Acholeplasma laidlawii var. *granulum* є фітопатогенним представником молікутів, який здатний спричинювати численні хвороби культурних рослин. Фітоплазмози можуть призводити до значних економічних втрат внаслідок істотного зниження врожайності сільськогосподарських культур, а також до повного припинення їх вирощування. Висока вірулентність збудників, недотримання агротехнологій щодо боротьби з переносниками і неефективність звичайних методів профілактики та подолання інфекції підвищують загрозу розповсюдження хвороб рослин фітоплазмової етіології. Пригнічення і контроль цих хвороб пов'язані з вивченням молекулярних механізмів взаємодії фітоплазм з рослинними клітинами, закономірностями персистенції цих мікроорганізмів і зумовленого ними фітопатогенезу [3]. Для фітоплазм, які можуть бути чинниками катастрофічних епіфітотій, специфічні фактори вірулентності досі не знайдено, а патогенез хвороби зумовлюють персистенція цих мікроорганізмів і пов'язані з нею реакції фітоімунітету.

У зв'язку зі стрімким поширенням фітоплазмових хвороб дослідники приділяють особливу увагу створенню ефективних засобів стримування, що базуються на підвищенні опірності рослини-хазяїна до збудників. Раніше нами було доведено позитивний вплив інокуляції рослин люцерни *Rhizobium meliloti* і утворення симбіотичної системи на зменшення прояву фітоплазмозу *M. sativa* у лабораторних умовах. Встановлено, що важливим наслідком сумісного використання у досліді ризобій і ахолеплазм є зменшення ознак фітоплазмозу рослин — відновлення зеленого забарвлення листків люцерни, поступове до-

лання симптомів в'янення і втрачання маси рослинами. Оскільки фітоплазми мають обмежені біосинтетичні можливості, отримуючи необхідні компоненти безпосередньо з клітин організму-хазяїна та здатні змінювати їх метаболічні шляхи, залишаються нез'ясованими особливості цих процесів в умовах кліматичних змін, що відбуваються.

Метою дослідження було встановити вплив фітоплазми *A. laidlawii* var. *granulum* 118 на морфометричні показники та вміст органічних кислот і цукрів у рослинах люцерни в умовах штучного засолення середовища їх вирощування.

Методика

У дослідженнях використовували насіння люцерни посівної сорт Росава, а також люцерни усіченої сорт Jemalong, які вирощували в умовах мікровегетаційного досліду. Насіння обробляли концентрованою соляною кислотою упродовж 7 хв, промивали стерильною дистильованою водою, нейтралізували 6 %-ним гіпохлоритом натрію впродовж 1 хв, промивали стерильною водою і пророщували в стерильних умовах за 18 °С до появи корінця завдовжки 4—6 мм (4 доби). У пробірки додавали по 10 мл агаризованого середовища Красильникова—Корєняко наступного складу: K_2HPO_4 — 1 г; $MgS0_4$ — 1 г; $Ca_3(PO_4)_2$ — 0,2 г; $FeSO_4$ — слідова кількість, вода дистильована — 1 л. Для створення умов сольового стресу і вивчення особливостей розвитку фітоплазмозу в цих умовах до агаризованого середовища додавали 50 мкМ NaCl.

Проростки висаджували по 2 у кожну пробірку. Рослини культивували в умовах лабораторії — природного освітлення і температури 16—18 °С.

У дослідженнях використано представник класу *Mollicutes — Candidatus Phytoplasma — A. laidlawii* var. *granulum* 118 — збудник блідо-зеленої карликовості пшениці з Національної колекції мікроорганізмів України Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. Культивування ахолеплазм здійснювали на поживному середовищі СМ ІМВ-72 упродовж 72 год за 32 °С. Густина культури становила $5 \cdot 10^5$ КУО [4].

Ефективний штам ризобій *R. meliloti* 425а, отриманий з Національної колекції мікроорганізмів України (ІМВ НАН України), вносили у пробірки мікровегетаційного досліду через 2—3 доби після перенесення проростків люцерни на агаризоване середовище.

З огляду на сучасні дані літератури про властивість фітоплазм потрапляти у рослину-мішень як за допомогою переносників, так і через корені, нами було проведено точкове зараження дослідних рослин. Інокуляцію рослин люцерни *A. laidlawii* var. *granulum* 118 виконували після 8 діб їх вирощування у мікровегетаційних умовах. Реєстрацію морфо-фізіологічних змін здійснювали вимірюванням довжини вегетативних органів рослин та зважування зразків (маса сирої речовини рослин) на десятому тижні культивування у мікровегетаційному досліді. Для обчислення брали середнє значення вимірювань 10 рослин з кожного варіанта.

Вміст органічних кислот і цукрів у рослинах люцерни за дії фітоплазм і засолення у мікровегетаційному досліді визначали відповідно до методик, описаних у працях [5—7].

Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали за загальноприйнятими методиками із залученням програми Microsoft Excel 2019. У таблицях наведено середньоарифметичні дані та їхні стандартні похибки.

Результати і обговорення

При вивченні впливу фітоплазм на перебіг зараження люцерни усіченої за засолення середовища 50 мкМ NaCl в умовах мікровегетаційного досліду встановлено ефект підсилення шкідливого впливу фітопатогенної ахолеплазми на *M. truncatula*. (табл. 1). Порівняно з інфікованими фітоплазмою рослинами варіанта зі стандартним складом поживного середовища у заражених рослинах варіанта із засоленням спостерігалися зміни морфометричних показників: зменшу-

ТАБЛИЦЯ 1. Вплив стандартних умов і засолення середовища вирощування на морфометричні показники M. truncatula при інфікуванні фітоплазмами (10 тижнів культивування рослин у мікровегетаційному досліді)

Варіант	Морфометричні показники					
	Висота рослини, мм	Кількість пагонів, шт.	Кількість листків, шт.	Площа листка, мм^2	Довжина кореня, мм	Маса сирої речовини рослин, г
Середовище стандартного складу						
Стерильні рослини (контроль)	124,0±1,1	6,0±0,2	8,2±0,7	18,7±1,3	5,6±0,4	13,5±0,9
Рослини, інфіковані фітоплазмою	74,0±0,6	5,7±0,5	9,7±0,7	15,5±0,8	8,4±0,8	6,4±0,6
Рослини, інокульовані ризобіями	152,0±1,3	8,0±0,6	10,5±0,8	17,9±0,7	5,4±0,5	18,3±1,2
Рослини, інокульовані ризобіями і фітоплазмою	85,0±0,8	5,7±0,4	8,8±0,7	14,1±0,9	6,3±0,6	8,0±0,8
Середовище із 50 мкМ NaCl						
Стерильні рослини	30,0±0,2	5,6±0,3	5,5±0,4	10,5±0,7	10,1±0,6	4,8±0,4
Рослини, інфіковані фітоплазмою	18,0±0,9	4,4±0,4	4,0±0,4	6,2±0,6	12,6±1,0	2,1±0,2
Рослини, інокульовані ризобіями	61,0±0,6	6,8±0,6	7,0±0,5	10,0±0,8	8,2±0,7	6,3±0,5
Рослини, інокульовані ризобіями і фітоплазмою	27,0±0,1	4,4±0,4	5,2±0,4	7,9±0,7	7,4±0,5	3,7±0,3

валася висота рослин (у 4,1 раза), кількість пагонів (у 1,3 раза), кількість і площа листків (у 2,4 і 2,5 раза), маса рослин (у 3,1 раза), тоді як довжина кореня збільшувалася (у 1,5 раза).

На відміну від середовища зі стандартним складом, на якому відбувалось подовження вегетації люцерни під впливом фітоплазми, засолення середовища 50 мкМ NaCl призводило до зворотного ефекту — скорочення тривалості вегетації рослин під впливом *A. laidlawii* var. *granulum* 118 і пришвидшення їх загибелі.

У природних умовах створення симбіотичної генетично поліморфної системи *R. meliloti—M. truncatula* є важливим чинником адаптації рослин до несприятливих умов, включно зі стресовими. За інокуляції рослин люцерни усіченої штамом ризобій *R. meliloti* 425а, який раніше продемонстрував високі показники при утворенні симбіозу з *M. sativa* [8, 9], встановлено, що у цьому випадку також утворювалась симбіотична система, але з іншою динамікою. Впродовж 40—50 діб рослини відставали за морфометричними показниками від стерильних варіантів, після чого зрівнялися з ними і навіть перевищили. Показово, що порівняно зі специфічними до цього штаму ризобій рослинами люцерни посівної, у люцерни усіченої (з однорічним терміном вегетації) відбувалося відтермінування утворення бульбочок. На відміну від *M. sativa* на звичайному середовищі на *M. truncatula* рожеві азотфіксувальні бульбочки стандартного розміру і типової морфології утворювалися лише після 60—70 діб з моменту інокуляції.

Встановлено, що впродовж перших 5 тижнів після зараження культурою ахолеплазм як у випадку *M. truncatula,* так і *M. sativa* відбувалася певна стимуляція рослин. Вимірювання висоти рослин люцерни показало, що у випадку інфікування ахолеплазмами цей показник перевищував стерильні контролі в 1,4—1,6 раза, при цьому спостерігалося збільшення кількості листків щодо контролю. Згідно з даними літератури, потовщення стебла, збільшення ширини листків, тобто формування заокругленішої листової пластинки, подовження міжвузлів і підвищена кількість листків — характерні зовнішні ознаки прояву фітоплазмової інфекції [1, 4]. Істотної різниці між видами люцерни через 5 тижнів після зараження за цими показниками не виявлено.

За морфометричного дослідження зразків обох видів люцерни через 10 тижнів після інфікування *A. laidlawii* var. *granulum* 118 з'являлися розбіжності між усіченою і посівною люцернами. Вимірювання показало, що симптоми ураження прогресували в обох видів, проте відмінності між інфікованими зразками і стерильними контролями чіткіше проявилися у рослин *M. truncatula.* Крім того, зареєстровано зниження маси, прив'янення і пожовтіння листків рослин.

У стандартних умовах мікровегетаційного досліду за відсутності природного симбіозу з бульбочковими бактеріями відбувається азотне голодування рослин, погіршення їхнього фізіологічного стану, що знижує опірність фітопатогенам і збільшує прояв симптомів фітоплазмозу. Через 15 тижнів після інфікування ахолеплазмами відбувалось зів'янення і всихання рослин: у випадку *M. truncatula* — 90 %, а *M. sativa* — 75 %. Припускається, що внесення у систему мікровегетації культур азотфіксувальних бактерій сприятиме утворенню сим-

біозу з рослинами, покращить їх мінеральне живлення й активує систему захисту від ураження фітоплазмами.

Рослини варіанта середовища із 50 мкМ NaCl продемонстрували відтермінування бульбочкоутворення, до того ж бульбочки були дрібними й білого кольору, що відповідало характеристикам Fix(—) типу бульбочок. Імовірно, порівняно менший ступінь ефективності симбіозу пояснює недостатню протекторну дію *R. meliloti* 425а щодо ураження *M. truncatula* фітоплазмами. Згідно з літературними даними, створення стресостійких симбіозів зумовлене специфічністю взаємодії різних генотипів рослин і бактерій, оскільки відомо про збереження ефективності симбіозу штамами ризобій як із *M. sativa*, так і *M. truncatula* [2]. Тому, в подальших дослідженнях потрібно випробувати генетично різноманітні ризобії з метою підбору штамів азотфіксувальних мікроорганізмів із доведеною ознакою солестійкості для зменшення проявів фітоплазмозу бобових рослин за умов сольового стресу.

При вивченні вмісту органічних кислот в рослинах *M. sativa* встановлено, що в їх складі, як у стерильних, так й інфікованих *A. laidlawii var.granulum* 118 варіантах, переважають малонова, яблучна, лимонна і галактуронова кислоти. Інфікування рослин фітоплазмами спричинює зміни у метаболізмі організму хазяїна (табл. 2). На перших етапах взаємодії (5—7 діб) зменшується вміст органічних кислот: малонової — на 22 %, яблучної — на 44, лимонної — на 57 і галактуронової — на 75 %. Вважають, що фітоплазми залежать від поглинання фосфорильованих гексоз як джерела вуглецю, який потім може потрапляти у гліколітичний шлях фітоплазми. Однак у варіанті досліду із засоленням середовища в інфікованих фітоплазмою рослин вміст лимонної та галактуронової кислот не змінювався, проте збільшувався вміст (у 2,5 раза) малонової і яблучної кислот щодо інфікованого незасоленого варіанта.

Малонова кислота є інгібітором сукцинатдегідрогенази [10], яка у еукаріотів міцно пов'язана з внутрішньою мітохондріальною мембраною (у бактерій вона розташована на плазматичній мембрані). Цей фермент містить три різні залізо-сірчані кластери та одну ковалентно пов'язану з ним молекулу ФАД (флавінаденіндинуклеотид). Електрони від сукцинату проходять через ФАД і залізо-сірчані кластери, а далі вони у складі переносників електронів потрапляють у дихальний електронтранспортний ланцюг, розташований на внутрішній мембрані мітохондрій. ФАД при цьому відновлюється до $ФАДН_2$, од-

ТАБЛИЦЯ 2. Вміст органічних кислот (мкг/г) у рослинах M. sativa під впливом зараження A. laidlawi var. granulum 118 на стандартному і засоленому (NaCl 50 мкМ) середовищі мікровегетаційного досліду (5—7 діб після інфікування)

Варіант	Малонова кислота	Яблучна кислота	Лимонна кислота	D-(+)-галактуронова кислота
Стерильний контроль	211,09±12,45	78,34±6,95	79,57±6,45	24,45±1,92
З інфікуванням ахолеплазмами	164,05±8,31	43,44±3,6	34,61±2,14	6,03±0,54
З ахолеплазмами при засоленні	405,76±27,5	106,75±9,25	37,62±3,1	6,69±0,58

нак подальшим акцептором електронів є убіхінон. Перехід електронів від сукцинату через ці переносники до кінцевого акцептора електронів (кисню) супроводжується синтезом АТФ.

Малонат є сильним конкурентним інгібітором сукцинатдегідрогенази, і додавання цієї сполуки до мітохондрій блокує активність циклу трикарбонових кислот [11]. Кальцієва сіль малонової кислоти у великих кількостях міститься у багатьох фруктах і коренеплодах. Малонова кислота може відігравати роль у захисті рослин від стресових чинників, таких як посуха або висока температура, допомагає утримувати воду всередині клітин, забезпечуючи тургор, що сприяє їх оптимальному функціонуванню. Крім того, повідомлялося про можливість застосування цієї сполуки у захисті рослин від фітопатогена *Sclerotinia sclerotiorum* [12].

Стосовно яблучної кислоти відомо, що вона є не лише учасником циклу Кребса, а й інтермедіатом гліоксилатного циклу, який відбувається у пероксисомах і може бути задіяний у захисті рослини при інфікуванні патогенами [13]. У такому випадку яблучна кислота може бути метаболізована у цитозолі за участі NADPMe-ферменту, який широко розповсюджений у рослинному організмі та залучений, зокрема, до біосинтезу специфічних захисних компонентів — флавоноїдів або кофакторів антиоксидантних ферментів.

Отже, збільшення вмісту малонової і яблучної кислот в інфікованих фітоплазмою рослинах при засоленні середовища можуть свідчити про підвищену активність системи захисту рослин, що додатково виснажує організм у несприятливих умовах.

Крім того, у складі рослин люцерни як стерильних, так і уражених фітоплазмою, встановлено переважну наявність цукрози, глюкози, галактози. У стресових умовах, спричинених ураженням рослин фітоплазмою і при засоленні середовища вирощування також виявлена треоза (тетроза), що важається частиною родини моноцукридів альдози (рис. 1). Показано, що у першу фазу інфікування люцерни (5—7 діб після зараження) у стандартному середовищі *A. laidlawi* var. *granulum* 118 спричинює зменшення вмісту цукрів, що пояснюється

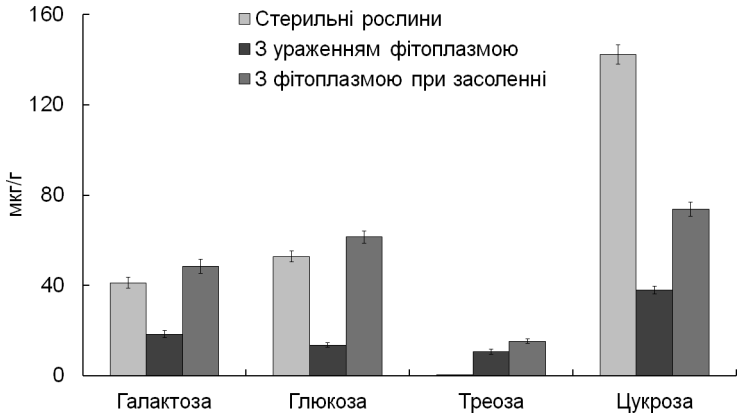


Рис. 1. Вміст цукрів (мкг/г) у рослинах *M. sativa* під впливом зараження *A. laidlawi* var. *granulum* 118 на стандартному і засоленому середовищі мікровегетаційного досліду (5—7 діб після інфікування)

активним їх засвоєнням фітоплазмою. На пізніших етапах (15—20 діб після зараження) вміст цих сполук збільшується (рис. 2).

З літератури відомо про зміни вмісту карбогідратів рослин у відповідь на фітоплазмову інфекцію: їх вміст значно збільшувався в листках *Catharanthus roseus*, інфікованих кількома таксономічно неспорідненими фітоплазмами. Вміст крохмалю та глюкози збільшувався у зрілому листковому матеріалі папаї, інфікованої *Ca. p. australiense*. Крім того, вміст розчинного цукру і вміст крохмалю збільшувався в листках кокосової пальми, інфікованої фітоплазмою LY, а також підвищувалася кількість редукуючих цукрів у листках кукурудзи, інфікованих фітоплазмою кущистої карликовості кукурудзи [14—18]. Проте вплив на ці процеси засолення субстрату вивчено недостатньо.

На засоленому середовищі у першу фазу інфікування люцерни фітоплазмою (5—7 діб після зараження) вміст всіх цукрів — цукрози, глюкози, галактози і треози — збільшувався порівняно з інфікованим варіантом без засолення, що свідчить про активну життєдіяльність фітопатогенного мікроорганізму в несприятливих для рослин умовах. Згодом рослини *M. sativa*, уражені фітоплазмозом, швидко в'януть і гинуть. Це узгоджується з даними, згідно з якими у фітоплазм відсутні ферменти фосфотрансферазної системи, яку більшість бактерій використовують як енергоефективний спосіб одночасного імпорту та фосфорилювання цукрів, таких як цукроза, глюкоза та фруктоза [19, 20]. Додаткове стресове навантаження у вигляді засолення середовища призводить до послаблення активності захисних систем рослин і загибелі.

Отже, при засоленні середовища відбувається підсилення згубного впливу *A. laidlawii* var. *granulum* 118 на рослини люцерни, на що потрібно зважати при їх вирощуванні в умовах змін властивостей ґрунту. Інокуляція рослин *R. meliloti* 425a приводить до незначного зниження ознак фітоплазмозу рослин за рівня засолення 50 мкМ NaCl в умовах мікровегетаційного досліду. У рослин *M. sativa* під впливом зараження *A. laidlawi* var. *granulum* 118 змінюється вміст органічних кислот і цукрів: на перших етапах взаємодії зменшується, а

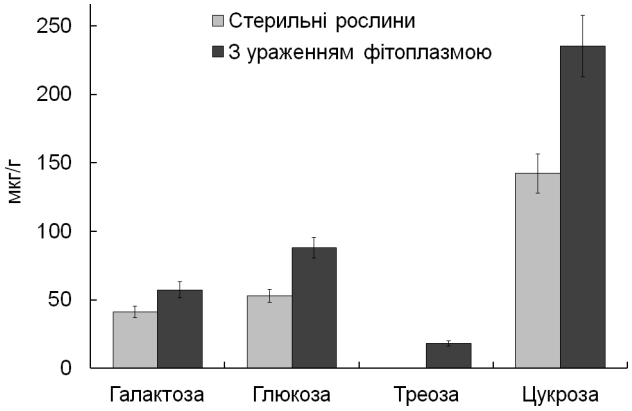


Рис. 2. Вміст цукрів (мкг/г) у рослинах *M. sativa* під впливом зараження *A. laidlawi* var. *granulum* 118 на стандартному середовищі мікровегетаційного досліду (15—20 діб після інфікування))

на пізніших — збільшується. При засоленні середовища в уражених фітоплазмою рослинах відбувається інтенсивне накопичення карбогідратних речовин, що супроводжується пришвидшенням їх загибелі. Це свідчить про підсилення негативного впливу сумарного стресу через погіршення фізіологічного стану рослин у несприятливих умовах і підтверджує зменшення толерантності рослин до фітоплазм внаслідок засолення ґрунту.

Внесок авторів: *концепція та дизайн дослідження* — К.С. Коробкова, В.П. Патика, М.А. Хархота; *отримання даних* — К.С. Коробкова, М.А. Хархота; *аналіз та інтерпретація результатів* — К.С. Коробкова, В.П. Патика, М.А. Хархота; *підготовка рукопису — написання первинного тексту статті* — К.С. Коробкова, В.П. Патика, М.А. Хархота; *підготовка рукопису — перегляд і редагування* — К.С. Коробкова, В.П. Патика, М.А. Хархота.

Всі автори переглянули і схвалили остаточну версію рукопису.

Конфлікт інтересів: автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Gubry-Rangin C., Garcia M., Bena G. Partner choice in *Medicago truncatula—Sinorhizobium symbiosis*. *Proc. Biol. Sci*. 2010. **277**(1690). P. 1947—1951. https://doi.org/10.1098/rspb.2009.2072
2. Курчак О.Н., Проворов Н.А., Онищук О.П., Воробьев Н.И., Румянцева М.Л., Симаров Б.В. Воздействие солевого стресса на генетически полиморфную систему *Sinorhizobium meliloti — Medicago truncatula*. *Генетика*. 2014. **50**(7). С. 777—786. https://doi.org/10.7868/S001667581406006
3. Christensen N.M., Axelsen K.B., Nicolaisen M., Schulz A. Phytoplasmas and their interactions with hosts. *Plant Trends Sci*. 2005. **10**. P. 526—535.
4. Скрипаль И.Г., Малиновская Л.П. Среда СМ ИМВ-72 для выделения и культивирования фитопатогенных микоплазм. *Микробиол журн*. 1984. 46, № 2. С. 71—75.
5. Fox A. Carbohydrate profiling of bacteria by gas chromatography—mass spectrometry and their trace A detection in complex matrices by gas chromatography—tandem mass spectrometry. *J. Chromatography*. 1999. **843**, N 1—2. P. 287—300.
6. Metabolomics: methods and protocols / Ed. by W.Weckwerth. Springer Science & Business Media. 2007. Vol. 358. 350 p.
7. Хархота М.А., Рибальченко Н.П., Грабова Г.Ю., Авдєєва Л.В. Методи дослідження метаболітів бактерій роду *Bacillace*. Науково-методичні рекомендації. Київ: ТОВ ЦП «Компринт». 2021. 170 с.
8. Коробкова К.С., Затовська Т.В. Вплив ризобій на прояв мікоплазмової інфекції люцерни в лабораторних умовах. *Наук. зап. Тернопіль. нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка*. Серія Біологія. 2017. № 1. С. 120—123. http://nbuv.gov.ua/UJRN/NZTNPU_2017_1_20
9. Коробкова Е.С., Затовская Т.В., Патыка В.Ф. Влияние *Tn5*-мутанта *Rhizobium meliloti* с измененными липополисахаридами на проявление микоплазмоза люцерны *Фактори експерим. еволюції організмів*. 2017. **21**. С. 278—282.
10. Bentley L. Occurrence of malonic acid in plants. *Nature*. 1952. **170**. P. 847—848. https://doi.org/10.1038/170847b0
11. David L. Nelson, Michael M. Cox. Lehninger Principles of biochemistry. Fifth edition. New York: W.H. Freeman and company, 2008. 1158 p.
12. Fei YC, Cheng Q, Zhang H, Han C, Wang X, Li YF, Li SQ, Zhao XH. Maleic acid and malonic acid reduced the pathogenicity of *Sclerotinia sclerotiorum* by inhibiting mycelial growth, sclerotia formation and virulence factors. *Stress Biol*. 2023. **3**. P.45. https://doi.org/10.1007/s44154-023-00122-0
13. Sun X, Han G, Meng Z, Lin L, Sui N. Roles of malic enzymes in plant development and stress responses. *Plant Signal Behav*. 2019. **14**(10) e1644596. https://doi.org/10.1080/15592324.2019.1644596

14. Lepka P., Stitt, Moll E., Seemuller M.E. Effect of phytoplasmal infection on concentration and translocation of carbohydrates and amino acids in periwinkle and tobacco. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 1999. **55**. P. 59—68.
15. Choi Y.H., Tapias E.C., Kim H.K., Lefeber A.W.M., Erkelens C., Verhoeven J.T.J., Brzin J., Zel J., Verpoorte R. Metabolic discrimination of *Catharanthus roseus* leaves infected by phytoplasma using 1H-NMR spectroscopy and multivariate data analysis. *Plant Physiol.* 2004. **145**. P. 2398—2410. https://doi.org/10.1104/pp.104.041012
16. Guthrie J.N., Walsh K.B., Scott P.T., Rasmussen T.S. The phytopathology of *Australian papaya* dieback: a proposed role for phytoplasma. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2001. 58. P. 23—30. https://doi.org/10.1006/PMPP.2000.0311
17. Maust B.E., Espadas F., Talavera C., Aguilar M., Santamaria J.M., Oropeza C. Changes in carbohydrate metabolism in coconut palms infected with the lethal yellowing phytoplasma. *Phytopathology*. 2003. **93**. P. 976—981. https://doi.org/101094/PHYTO.2003.93.8.976
18. Junqueira A., Bedendo I., Pascholati S. Biochemical changes in cornplants infected by the maize bushy stunt phytoplasma. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2004. **65**. P. 181—185. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2005.01
19. Bai X., Zhang J., Ewing A., Miller S., Radek A., Shevchenko D., Tsukerman K., Walunas T., Lapidus A., Campbell J., Hogenhout S. Living with genome instability: the adaptation of phytoplasmas to diverse environments of their insect and planthosts. *J. Bacteriol.* 2006. **188**. P. 3682—3696. https://doi.org/10.1128/JB.188.10.3682-3696.2006
20. Namba S. Molecular and biological properties of phytoplasmas. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 2019. **95**(7). P. 401—418. https://doi.org/10.2183/pjab.95.028

REFERENCES

1. Gubry-Rangin, C., Garcia, M. & Bena, G. (2010). Partner choice in Medicago truncatula — Sinorhizobium symbiosis. Proc. Biol. Sci., 277(1690), pp. 1947-1951. https://doi.org/10.1098/rspb.2009.2072
2. Kurchak, O.N., Provorov, N.A., Onishchuk, O.P., Vorob'yev, N.I., Rumyantseva, M.L. & Simarov, B.V. (2014). The effects of salt stress on the genetically polymorphic Sinorhizobium meliloti—Medicago truncatula system. Genetika, 50(7), pp. 777-786. https://doi.org/10.7868/S001667581406006
3. Christensen, N.M., Axelsen, K.B., Nicolaisen, M. & Schulz, A. (2005). Phytoplasmas and their interactions with hosts. Plant Trends Sci., 10. pp. 526-535.
4. Skripal, I.G. & Malinovskaya, L.P. (1984). SM IMV-72 medium for the isolation and culture of phytopathogenic mycoplasmas. Mikrobiol. J., 46, No. 2. pp. 71-75.
5. Fox, A. (1999). Carbohydrate profiling of bacteria by gas chromatography—mass spectrometry and their trace a detection in complex matrices by gas chromatography—tandem mass spectrometry. J. Chromatography, 843, N 1-2, pp. 287-300.
6. Metabolomics: methods and protocols / Ed. by W.Weckwerth. Springer Science & Business Media. 2007, Vol. 358, 350 p.
7. Kharkhota, M.A., Rybalchenko, N.P., Hrabova, H.Iu. & Avdieieva L.V. (2021). Methods for studying metabolites of bacteria of the genus Bacillace: Scientific and Methodological Recommendations Kyiv: TOV TsP «Komprynt». 170 p. [in Ukrainian].
8. Korobkova, K.S. & Zatovska, T.V. (2017). The effect of Rhizobia on the manifestation of Mycoplasma infection in alfalfa under laboratory conditions Nauk. zap. Ternopil. nats. ped. Un-tu im. V. Hnatiuka. S. Biol., No. 1, pp. 120-123 [in Ukrainian]. http://nbuv.gov.ua/UJRN/NZTNPU_2017_1_20
9. Korobkova, E.S., Zatovskaia, T.V. & Patyka, V.F. (2017). The effect of a Tn5 mutant of Rhizobium meliloti with altered lipopolysaccharides to the manifestation of alfalfa mycoplasmosis. Faktory eksperym. evoliutsii orhanizmiv, 21, pp. 278-282.
10. Bentley, L. (1952). Occurrence of malonic acid in plants. Nature, 170, pp. 847-848. https://doi.org/10.1038/170847b0
11. David, L. Nelson & Michael, M. Cox. Lehninger Principles of biochemistry. Fifth edition. New York: W.H. Freeman and company, 2008, 1158 p.
12. Fei, Y.C., Cheng, Q., Zhang, H., Han, C., Wang, X., Li, Y.F., Li, S.Q. & Zhao, X.H. (2023). Maleic acid and malonic acid reduced the pathogenicity of Sclerotinia sclerotio-

rum by inhibiting mycelial growth, sclerotia formation and virulence factors. Stress Biol., 3, 45. https://doi.org/10.1007/s44154-023-00122-0
13. Sun, X., Han, G., Meng, Z., Lin, L. & Sui, N. (2019). Roles of malic enzymes in plant development and stress responses. Plant Signal Behav., 14(10), e1644596. https://doi.org/10.1080/15592324.2019.1644596
14. Lepka, P., Stitt, Moll E. & Seemuller, M.E. (1999). Effect of phytoplasmal infection on concentration and translocation of carbohydrates and amino acids in periwinkle and tobacco. Physiol. Mol. Plant Pathol., 55, pp. 59-68.
15. Choi, Y.H., Tapias, E.C., Kim, H.K., Lefeber, A.W.M., Erkelens, C., Verhoeven, J.T.J., Brzin, J., Zel, J. & Verpoorte, R. (2004). Metabolic discrimination of Catharanthus roseus leaves infected by phytoplasma using 1H-NMR spectroscopy and multivariate data analysis. Plant Physiol., 145, pp. 2398-2410. https://doi.org/10.1104/pp.104.041012
16. Guthrie, J.N., Walsh, K.B., Scott, P.T. & Rasmussen, T.S. (2001). The phytopathology of Australian papaya dieback: a proposed role for phytoplasma. Physiol. Mol. Plant Pathol., 58, pp. 23-30. https://doi.org/10.1006/PMPP.2000.0311
17. Maust, B.E., Espadas, F., Talavera, C., Aguilar, M., Santamaria, J.M. & Oropeza, C. (2003). Changes in carbohydrate metabolism in coconut palms infected with the lethal yellowing phytoplasma. Phytopathology, 93, pp. 976-981. https://doi.org/101094/PHYTO.2003.93.8.976
18. Junqueira, A., Bedendo, I. & Pascholati S. (2004). Biochemical changes in cornplants infected by the maize bushy stunt phytoplasma. Physiol. Mol. Plant Pathol., 65, pp. 181-185. https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2005.01
19. Bai, X., Zhang, J., Ewing, A., Miller, S., Radek, A., Shevchenko, D., Tsukerman, K., Walunas, T., Lapidus, A., Campbell, J. & Hogenhout S. (2006). Living with genome instability: the adaptation of phytoplasmas to diverse environments of their insect and planthosts. J. Bacteriol., 188, pp. 3682-3696. https://doi.org/10.1128/JB.188.10.3682-3696.2006
20. Namba, S. (2019). Molecular and biological properties of phytoplasmas. Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci., 95(7), pp. 401-418. https://doi.org/10.2183/pjab.95.028

Отримано 15.07.2026. Схвалено до друку 27.07.2026. Опубліковано 30.09.2026

THE EFFECT OF ARTIFICIAL SALINIZATION OF THE GROWING MEDIUM ON PHYTOPLASMA INFECTION OF ALFALFA IN SYMBIOSIS WITH *RHIZOBIUM MELILOTI*

K.S. Korobkova, V.P. Patyka, M.A. Kharkhota

D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine
154 Zabolotny St., Kyiv 03143, Ukraine
e-mail: kkorobkova@ukr.net

The aim of the study was to determine the effect of the phytoplasma *Acholeplasma laidlawii* var. *granulum* 118 on alfalfa plants under conditions of artificial salinization of their growing medium. In a micro-vegetation experiment, the response of leguminous plants — *Medicago sativa* and *M. truncatula* — (morphometric parameters, and organic acids and saccharides content) was studied. Additionally, to enhance the plants' tolerance to a complex of stressors (salinity and phytoplasma infection), the formation of a symbiosis between alfalfa plants and an effective strain of the bacterium *Rhizobium meliloti* 425a was investigated. It was established that salinization of the nutrient medium intensifies the detrimental effect of *A. laidlawii* var. *granulum* 118 on alfalfa plants, which should be taken into account when growing them under conditions of changing soil parameters. Inoculation of plants with *R. meliloti* 425a results in a slight reduction in phytoplasmosis symptoms at 50 μM NaCl under micro-vegetation experiment conditions. In the *M. sativa* plants, the content of organic acids and saccharides changed under infection by *A. laid-*

lawi var. *granulum* 118: it decreased in the early stages of the interaction and increased in the later stages. There was an intense accumulation of organic acids and saccharides in plants infected with phytoplasma under effect of salinity, it accompanied by an acceleration in their degradation. It indicates an increase in the negative effects of cumulative stress due to the suppression of the plants' physiological status under adverse conditions and confirms a decrease in plant tolerance to phytoplasmas as a result of soil salinization.

Key words: *Medicago*, *Rhizobium*, phytoplasma, organic acids, saccharides.

ORCID

В.П. ПАТИКА — V.P. Patyka https://orcid.org/0000-0003-1896-7116

М.А. ХАРХОТА — M.A. Kharkhota https://orcid.org/0000-0003-4734-2887