

## ІДЕНТИФІКАЦІЯ ТА ДІАГНОСТИКА УРАЖЕНОСТІ ЗБУДНИКОМ ФІТОПЛАЗМОВОЇ ІНФЕКЦІЇ РОСЛИН *BERBERIS THUNBERGII* DC

<sup>1</sup>Л. О. Конуп <https://orcid.org/0000-0002-1102-1697>

<sup>2</sup>М. Й. Піковський <https://orcid.org/0000-0003-0689-604X>

<sup>1</sup>В. Л. Чистякова <https://orcid.org/0000-0002-1453-0796>

<sup>1</sup>А. І. Конуп <https://orcid.org/0000-0002-8717-3136>

<sup>1</sup>Національний науковий центр «Інститут виноградарства і виноробства імені В. С. Таїрова» НААН України,  
вул. Перемоги, 27, м. Одеса, 65496, Україна,  
e-mail: lkmicrobiol@ukr.net

<sup>2</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України,  
вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна

За шкідливістю фітоплазмової інфекції рослин відносяться до катастрофічних захворювань, які часто приймають характер епіфітотій. Фітоплазма пов'язана із хворобами декількох видів рослин, серед них особливе місце займає барбарис, останнім часом виявлено ураження цим збудником інших рослин, таких як яблуні, груші, айстри, селера і список цих рослин постійно зростає. Ця інфекція знижує врожай багатьох важливих сільськогосподарських культур у всьому світі. За останні роки відбувається значне поширення фітоплазмової інфекції на різні рослини, які раніше не уражувалися цим збудником. Тому питання виявлення та ідентифікації збудника цієї хвороби різних рослин є досить актуальним. **Мета роботи** — виявити та ідентифікувати збудника у хворих рослин барбарису (*Berberis thunbergii* DC). **Матеріали і методи.** У роботі проводили візуальне обстеження кущів рослин. Для діагностики виявлених рослин з характерними симптомами і ідентифікації збудника використовували молекулярно-генетичний метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі. Дослідження проводили відповідно до атестованої методики з використанням обладнання ПЛР-лабораторії. В роботі використовували як універсальні тест-набори для виявлення фітоплазми, так і підібрані праймери і умови проведення ПЛР. **Результати.** Було обстежено 17 кущів рослин *Berberis thunbergii* DC, п'ять з них мали характерні симптоми фітоплазмової інфекції, а саме: аномальне видовження міжвузля, загальне пригнічення рослин, знебарвлювання листків або пагонів, скручування листків, кущистість наприкінці зростання пагонів і загальне пригнічення. За результатами лабораторного випробування методом ПЛР було ідентифіковано збудника фітоплазмової інфекції. **Висновки.** Вперше в Україні було виявлено і ідентифіковано збудника фітоплазмової хвороби на рослині *Berberis thunbergii* DC з симптомами ураження цією хворобою. Було підібрано концентрації праймерів і флуоресцентного зонду, умови проведення ПЛР реакції для визначення збудника.

Ключові слова: фітоплазма, ПЛР, *Berberis thunbergii* DC, хвороби рослин.

© Л. О. Конуп, М. Й. Піковський, В. Л. Чистякова, А. І. Конуп, 2026



Це стаття відкритого доступу за ліцензією [CC BY 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).



Серед небезпечних хвороб плодкових та культурних рослин особливе місце займають вірусні [11, 17], бактеріальні [1], грибні [2, 3] та фітоплазмові хвороби [1]. Вони наносять великих збитків сільському господарству. Кількість їх є значною і з кожним роком з'являються все нові форми фітопатогенів. Вони дуже впливають на якість цих рослин, продукцію сільського господарства, при цьому знижуються такі показники як цукристість, якість врожаю, зовнішній вид рослини. Останнє десятиріччя характеризується значними змінами епідеміологічної ситуації, що є наслідком антропогенного впливу на екосистеми і живі організми, що їх населяють. При цьому рівень ураження рослин збудниками хвороб, їх шкідливість і розповсюдження зростає. Фітоплазмози рослин дуже небезпечні хвороби, що призводять до великих втрат врожаю плодкових рослин. Фітоплазми — мікоплазмоподібні організми, прокаріоти, відносяться до класу *Mollicutes*, рід *Mycoplasma*. Встановлено, що деякі представники класу *Mollicutes* є збудниками більше 600 захворювань рослин [12]. За шкідливістю фітоплазмові інфекції рослин відносяться до катастрофічних захворювань, які часто приймають характер епіфітотій. Переносяться вони комахами, в яких циркулюють і розмножуються. За допомогою молекулярних методів фітоплазми було виявлено у рослинах та комах-переносниках. На основі аналізу 16S рДНК фітоплазми були класифіковані щонайменше на 15 груп та понад 38 підгруп [12, 15]. Фітоплазми, що належать до шести основних груп по 16S рПНК (16SrI, 16SrIII, 16SrV, 16SrX, 16SrXI та 16SrXII), було зареєстровано в Європі [5, 10, 12, 15, 17]. Група 16SrI (жовті айстри) є найбільшою, найрізноманітнішою та найпоширенішою групою фітоплазм [13, 15]. Симптоми ураження рослин фітоплазмами приблизно однакові і звичайно полягають у: розвитку зелених квіточок, втраті їх нормальної пігментації, стерильності, філлодіях (перетворення частини квіточки у листову структуру); утворенні «відьминих мітел» у результаті проліферації пагонів; у аномальному видовженні міжвузля, у результаті чого пагони стають тонкими; знебарвлюванні листків або пагонів; скручуванні або чашовидної форми листків; загальному пригніченні рослини незалежно від сезону почервоніння або пожовтіння листя. У ряді випадків спостерігається сильне пригнічення росту й навіть загибель рослин.

Для діагностики хвороби існують різні методи [4, 6, 7, 8, 19]. Основні проблеми щодо їх виявлення полягають у низькому титрі мікроорганізмів, залежності їх поширення в рослині від періоду вегетації і року, наявності в тканинах рослин інгібіторів полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), а також використанні специфічних методів для виявлення тієї або іншої фітоплазми [14].

Метою нашої роботи було виявити і ідентифікувати збудника фітоплазмової інфекції у рослинах барбарису (*Berberis thunbergii* DC) з симптомами ураження і без них (латентну інфекцію) за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції у режимі реального часу з гібридизаційно-флуоресцентною детекцією у зв'язку з тенденцією подальшого поширення цієї хвороби.

### Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження були кущі рослини барбарису *Berberis thunbergii* DC у кількості п'яти рослин з характерними симптомами ураження



фітоплазмою і дванадцять — без них. Обстеження проводили на території передмістя м. Києва на початку літнього періоду вегетації рослин.

Зразки листя рослин барбарису для виділення ДНК фітоплазми у кількості десять штук з однієї рослини було відібрано згідно з методикою [9], які зростали в однакових умовах на території передмістя м. Києва. Відбір проб листя рослин барбарису проводили з липня по жовтень 2023 року. Наважку листових жилок — 1,5 г гомогенізували у 20 мл крижаного буфера та центрифугували протягом 5 хв. при 2500 g (4 °C) з подальшим центрифугуванням супернатанту протягом 25 хв. при 18 000 g (4 °C). Лізис проводили у модифікованому буфері СТАВ (4% СТАВ, 1% PVP 10 000, без 2-меркаптоетанолу) при 65 °C. Після екстракції хлороформом/ізоаміловим спиртом (24:1) ДНК осаджували холодним (–20 °C) ізопропанолом, інкубували при кімнатній температурі протягом 20 хв. та центрифугували протягом 15 хв. при 15 000 g. Потім осад промивали холодним 80% етанолом (–20 °C), сушили за кімнатної температури та ресуспендували у 50 мкл ТЕ-буфера (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8,0) протягом ночі при 4 °C [9]. Виділену ДНК використовували для подальшої ампліфікації і ідентифікації збудника методом ПЛР у реальному часі.

Ампліфікацію проводили з універсальною парою праймерів до різних ділянок геному, специфічною для фітоплазм UniRNA Forward/UniRNA Reverse і флуоресцентного зонду UniRNA Probe (FAM) [9]. Синтез праймерів було здійснено за нашим замовленням компанією «ThermoFisher Scientific». Реакційна суміш (40 мкл) складалася із 4 мкл буферу 10x для ПЛР; 1,2 мкл 1,6 mM MgCl<sub>2</sub>; 5 мкл 2,5 mM dNTPs; 2 мкл 5 μM праймеру UniRNA Forward (aaa-tat-agt-gga-ggt-tat-cag-gga-tac-ag); 2 мкл 5 μM праймеру UniRNA Reverse (aac-cta-aca-tct-cac-gac-acg-aac-t); 2 мкл 5 μM флуоресцентного ДНК-зонду UniRNA Probe ((FAM)ac-gac-aac-cat-gca-cca(RTQ1); 0,4 мкл 5U/μl Taq ДНК-полімерази (реактиви фірми «ThermoFisher Scientific»); 22,8 мкл дейонізованої води і 2 мкл нерозведеної виділеної ДНК фітоплазми. Для збільшення виходу продукту ПЛР проводили дві ампліфікації, оскільки після першої візуально продукт ПЛР не спостерігався. Для підтвердження отриманих результатів також використовували комерційний набір для виявлення фітоплазми (Qualiplante, Франція). Протокол ампліфікації: 35 циклів: 95 °C 3 хв. — денатурації, 55 °C 1 хв. — відпалу і 72 °C 6 хв. 30 сек. — елонгації, проводили у програмованому термоциклері Rotor-Gene 6000 (Corbett Research Pty Ltd., Австралія), який має роторний формат реакційного блоку. Концентрацію прямого, зворотного праймерів, флуоресцентного ДНК-зонду було підібрано емпірично. Для контролю проведення реакції використовували негативний контрольний зразок (НКЗ) — 10xПЛР-буфер і позитивний контрольний зразок (ПКЗ) — із тест-системи для визначення фітоплазми (Qualiplante, Франція). Накопичення флуоресцентного сигналу вимірювали по 5-ти каналах відповідно: FAM/Green (470 нм/510 нм), JOE/Yellow/HEX (530 нм/555 нм), ROX/Orange (585 нм/610 нм), Cy5/Red (625 нм/660 нм) — для ідентифікації вірусів і Cy3.5/ Orange (585 нм/610 нм) — для сигналу ендogenous внутрішнього контролю. Облік результатів аналізу, розрахунок порогових циклів проводили за допомогою програми Rotor-Gene 6000 Series Software 1.7.



### Результати та їх обговорення

Для попереднього виявлення природи хвороби в практиці рослинництва широко використовується візуальний метод, який дозволяє цілеспрямовано відібрати зразки для подальших спеціальних аналізів. Разом із тим, в окремих випадках візуальний метод може досить чітко свідчити про фітоплазмову природу хвороби. В липні 2023 року на території передмістя Києва було виявлено рослини барбарису з характерними симптомами ураження фітоплазмозомою інфекцією (рис. 1). Вони проявлялися у другій половині липня і посилювалися до кінця вегетації.



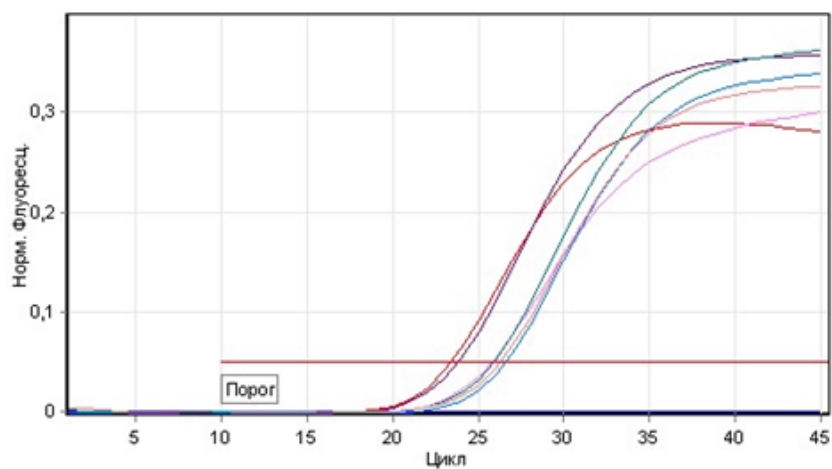
Рис. 1. Симптоми фітоплазмозної хвороби в умовах м. Києва на початку літнього періоду вегетації рослин *Berberis thunbergii* DC

Fig. 1. Symptoms of phytoplasma disease in *Berberis thunbergii* DC under the conditions of Kyiv region at the onset of the summer growing season

Вони характеризувалися фасціацією та деформацією пагонів, укороченням міжвузлів і підвищеною куцистістю верхівок, симптомами філоїдії квіток, загальним пожовтінням та затримкою росту рослин. У всіх уражених рослин можна було спостерігати спільні ознаки, пов'язані зі специфічними змінами вегетативних та репродуктивних органів, що дозволило візуально ідентифікувати хворобу як фітоплазмозу. У природних умовах у рослин, інфікованих фітоплазмами, як правило, спостерігалися різні поєднання ознак ураження, що значною мірою пов'язано, очевидно із екологічними умовами регіону. Рослини з симптомами ураження (5 рослин) і рослини, які знаходилися поруч з ними, але без характерних симптомів (7 рослин), були використані для дослідження.

Для цього попередньо виділяли ДНК збудника, з якою проводили ампліфікацію методом ПЛР у реальному часі з гібридизаційно-флуоресцентною детекцією. Проби розводили у співвідношенні 1:50. У результаті оптимізації методики кількість досліджуваної проби було зменшено до 0,5 мкл з 2 мкл, а також концентрація магнію збільшена до 3 мМ з 1,6 мМ, що привело до утворення більш чітких сигналів реакції (рис. 2).





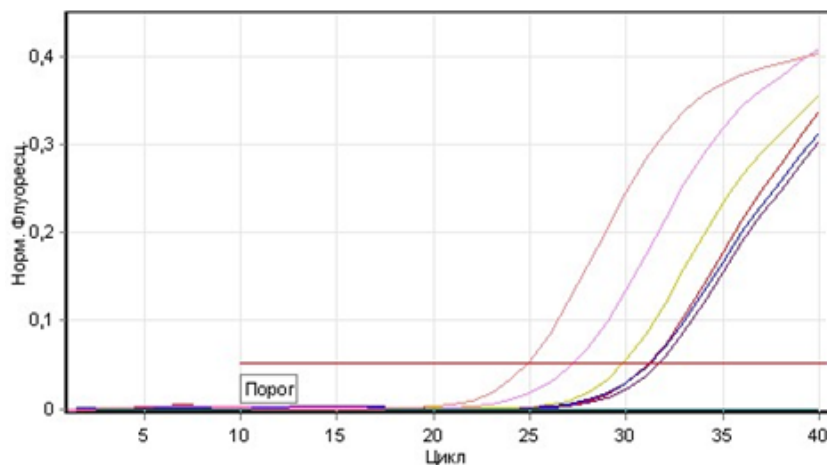
**Рис. 2.** Ідентифікація збудника фітоплазмозної інфекції у рослин *Berberis thunbergii* DC методом ПЛР у режимі реального часу з підібраними умовами проведення реакції: 1 — ПКЗ, позитивний зразок з комерційного тест-набору для визначення фітоплазми (*Qualiplante*, Франція); 2–6 — позитивні зразки уражених фітоплазмою рослин, 7 — НКЗ (негативний контрольний зразок)

**Fig. 2.** Identification of the phytoplasma pathogen in *Berberis thunbergii* DC plants by real-time PCR using optimized reaction conditions: 1 — PCR (positive control), a positive sample from a commercial phytoplasma detection kit (*Qualiplante*, France); 2–6 — positive samples from phytoplasma-infected plants; 7 — NC (negative control sample)

У результаті проведеного ПЛР-аналізу встановлено, що у 5-ти рослин з характерними симптомами було виявлено позитивний сигнал на наявність збудника фітоплазмозної інфекції. Ефективність ампліфікації була вищою за 89%. Для підтвердження ураженості рослин барбарису фітоплазмою провели ПЛР у реальному часі з використанням комерційного набору для виявлення збудника з універсальною парою праймерів (рис. 3).

Подальший аналіз результатів ПЛР з використанням комерційного набору (рис. 2) і підібраними умовами проведення реакції (рис. 3) підтвердив інфекцію на барбарисі. Результати показують, що розроблена система виявлення фітоплазми за допомогою ПЛР у реальному часі була дуже чутливою. Порівняння двох (або більше) діагностичних прийомів є поширеним підходом для визнання достовірності результатів і розрахунку діагностичної чутливості та специфічності.

Діагностика фітоплазмозної інфекції наразі переважно базується на ПЛР у реальному часі, хоча раніше використовували звичайну ПЛР з електрофлоретичною детекцією. Якість та кількість ізольованої ДНК значно впливають на ідентифікацію збудника. Моніторинг значень  $C_t$  ендогенних контролів дозволяє оцінити якість отриманих результатів. Таким чином, за допомогою ПЛР у реальному часі з гібридизаційно-флуоресцентною детекцією можна ідентифікувати кожну реакцію з низькою кількістю ДНК. Вищі значення  $C_t$  були показником меншої кількості рослинної ДНК та, ймовірно, меншої кількості фітоплазматичної ДНК, присутньої в реакції. Вищі значення  $C_t$  рослинної ДНК вказують на хибнопозитивні результати ПЛР, і ДНК зразка слід



**Рис. 3.** Ідентифікація збудника фітоплазмозної інфекції у рослин *Berberis thunbergii* DC методом ПЛР у режимі реального часу з комерційним набором (*Qualiplante*, Франція): 1 — ПКЗ, позитивний зразок з комерційного тест-набору для визначення фітоплазми (*Qualiplante*, Франція); 2-6 — позитивні зразки уражених фітоплазмовою рослин, 7 — НКЗ (негативний контрольний зразок)

**Fig. 3.** Identification of the phytoplasma pathogen in *Berberis thunbergii* DC plants by real-time PCR using a commercial kit (*Qualiplante*, France): 1 — PCR (positive control), a positive sample from the commercial phytoplasma detection kit (*Qualiplante*, France); 2–6 — positive samples from phytoplasma-infected plants; 7 — NC (negative control sample)

повторно виділяти і ампліфікувати. Підвищена чутливість ПЛР у реальному часі може бути частково пов'язана з короткими ділянками цільової ДНК, які ампліфікуються в ПЛР у реальному часі на основі флуоресцентних зондів. Тому ПЛР у реальному часі можуть бути менш чутливими до деградації ДНК або інгібіторів зв'язування з ДНК, присутніх у зразках. При аналізі рослин із симптомами ураження фітоплазмовою значення  $C_t$  були високими ( $>30$ ), навіть у нерозведній ДНК. Тому слід зазначити, що методом ПЛР у реальному часі з гібридизаційно-флуоресцентною детекцією можна виявити фітоплазму, навіть у невеликій концентрації.

Вперше в Україні на території передмістя м. Києва було виявлено і ідентифіковано збудника фітоплазмозної хвороби на рослині *Berberis thunbergii* DC, які мали симптомами ураження фітоплазмовою.

Для ідентифікації збудника було підібрано концентрації праймерів і флуоресцентного зонду, умови проведення ПЛР. Ця інформація публікується вперше.

Аналіз підгрупи фітоплазм на основі 16S рДНК, які було виявлено у хворих рослин *Berberis thunbergii* DC, буде предметом подальших досліджень.

## IDENTIFICATION AND DIAGNOSIS OF PLANTS INFECTED BY THE CAUSANT OF PHYTOPLASM INFECTION *BERBERIS THUNBERGII* DC

<sup>1</sup>L. O. Konup <https://orcid.org/0000-0002-1102-1697>

<sup>2</sup>M. Y. Pikovskyi <https://orcid.org/0000-0003-0689-604X>

<sup>1</sup>V. L. Chystiakova <https://orcid.org/0000-0002-1453-0796>

<sup>1</sup>A. I. Konup <https://orcid.org/0000-0002-8717-3136>

<sup>1</sup>National Scientific Centre “Institute of Viticulture and Winemaking named after V. E. Tairov” of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine  
27 Peremohy St, Odesa, 65496, Ukraine,  
e-mail: lkmicrobiol@ukr.net

<sup>2</sup>National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine  
15 Heroiv Oborony St, Kyiv, 03041, Ukraine

### Summary

*In terms of harmfulness, phytoplasma infections of plants are catastrophic diseases that often take the form of epiphytotia. Phytoplasma is associated with diseases of several plant species, among which barberry occupies a special place, recently other plants, such as apple trees, pears, asters, celery, have been affected by this pathogen, and the list of these plants is constantly growing. This infection reduces the yield of many important agricultural crops around the world. In recent years, there has been a significant spread of phytoplasma infection to various plants that were not previously affected by this pathogen. Therefore, the issue of detecting and identifying the causative agent of this disease of various plants is quite relevant. **Aim.** The aim of the work is to detect and identify the pathogen in diseased barberry plants. **Materials and methods.** The work involved a visual examination of plant bushes. For the diagnosis of detected plants with characteristic symptoms and identification of the pathogen, the molecular genetic method of polymerase chain reaction (PCR) in real time was used. The studies were conducted according to a certified methodology using PCR laboratory equipment. The work used both universal test kits for phytoplasma detection, and selected primers and PCR conditions. **Results.** Seventeen *Berberis thunbergii* DC bushes were examined, five of which had characteristic symptoms of phytoplasma infection, namely: abnormal elongation of the internode, general plant suppression, discoloration of leaves or shoots, leaf curling, bushiness at the end of shoot growth and general suppression. According to the results of laboratory testing by PCR, the causative agent of phytoplasma infection was identified. **Conclusions.** For the first time in Ukraine, the pathogen of phytoplasma disease was detected and identified on a *Berberis thunbergii* DC plant. with symptoms of damage by this disease. The concentrations of primers and fluorescent probe, as well as the conditions for conducting the PCR reaction to determine the pathogen, were selected. The information is published for the first time.*

*Keywords: phytoplasma, PCR, Berberis thunbergii DC, plant diseases.*



**СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ**

1. Конуп А. І., Мулюкіна Н. А., Конуп Л. О. Виявлення вірусних, бактеріальних і фітоплазмових хвороб виноградних рослин на виноградниках Одеської області та їхня діагностика. *Вісник аграрної науки*. 2019. Вип. 4. С. 24–29. <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201904-04>
2. Піковський М. Й., Кирик М. М., Шевчук В. К., Конуп Л. О., Мельник В. І., Азаїкі С. С. Хвороби квітково-декоративних рослин : підручник. Київ : Ямчинський О. В., 2022. 379 с.
3. Піковський М. Й., Кирик М. М., Конуп Л. О. Патологія насіння сільськогосподарських культур : підручник. Київ : РВВ НУБіП України, 2023. 343 с.
4. Bejat A., Clair D., Angelini E., Boudon-Padieu E. Etude comparative de methods d'extraction et de detection moleculaire de phytoplasmes dans la pervenche de Madagascar et dans la vigne. *5eme congres de la Societe francaise de phytopathologie. Programme et resumes des communications* (Angers, France, 26–29 mars 2001). Angers, France, 2001. P. 22.
5. Bertaccini A., Vibio M., Stefani E. Detection and molecular characterization of phytoplasmas infecting grapevine in Liguria (Italy). *Phytopathologia Mediterranea*. 1995. Vol. 34. P. 137–141.
6. Davis M. J., Tsai O. P., Cox R. L., McDaniel L. L., Harrison N. A. Cloning of chromosomal and extrachromosomal DNA of the mycoplasma-like organism that causes maize bushy stunt disease. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 1988. Vol. 1. P. 295–302.
7. Davis R. E., Prince O. 3., Hammond R. W., Dally E. L., Lee I.-M. Polymerase chain reaction detection of Italian periwinkle virescence mycoplasma-like organisms (MLO) and evidence for relatedness with aster yellows MLOs. *Petria*. 1992. No 2. P. 183–192
8. Davis R. E., Jomantiene R., Dally E. L. Interoperon sequence heterogeneity and differential PCR-mediated amplification of sequences from the two rRNA operons in phytoplasma. *Proceedings of the 12th International Meeting of the International Organization for Mycoplasmaology* (Sydney, Australia, 22–28 July 1998). Sydney, Australia, 1998. P. 173.
9. Hren M., Boben J., Rotter A., Kralj P., Gruden K., Ravnikar M. Real-time PCR detection systems for Flavescence dorée and Bois noir phytoplasmas in grapevine: comparison with conventional PCR detection and application in diagnostics. *Plant Pathology*. 2007. Vol. 56. P. 785–796. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01688.x>
10. Kamińska M. Phytoplasma diseases of ornamental plants in Poland. *Zeszyty Naukowe Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa*. 2000. Vol. 7. P. 79–86.
11. Kovaleva I. A., Janse L. A., Konup L. A., Zelenyanskaya N. N., Vlasov V. V., Konup A. I., Muljukina N. A., Kyryk N. N., Pikovskyi M. Y. Detection of the infection of the Caberne Sauvignon variety of clone origin by grape viruses. *Cytology and Genetics*. 2022. Vol. 56, iss. 6. P. 504–512. <https://doi.org/10.3103/S0095452722060044>
12. Lee I.-M., Gundersen-Rindal D. E., Davis R. E. Bartoszyk I. M. Revised classification scheme of Phytoplasmas based on RFLP analyses of 16 rRNA



- and ribosomal prosomal protein gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 1998. Vol. 48. P. 1153–1169. <https://doi.org/10.1099/00207713-48-4-1153>
13. Lee I.-M., Gundersen-Rindal D. E., Davis R. E., Bottner K. D., Marcone C., Seemüller E. ‘Candidatus Phytoplasma asteris’, a novel phytoplasma taxon associated with aster yellows and related diseases. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2004. Vol. 54. P. 1037–1048. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02843-0>
  14. Lee I.-M., Davis R. Mycoplasmas. Molecular biology and pathogenicity / eds. Maniloff J. et al. Washington, DC : ASM, 1992. P. 379–390.
  15. Marcone C., Lee I.-M., Davis R. E., Ragozzino A., Seemüller E. Classification of aster yellows-group phytoplasmas based on combined analyses of RNA and tuf gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2000. Vol. 50. P. 1703–1713. <https://doi.org/10.1099/00207713-50-5-1703>.
  16. Mishchenko L. T., Konup L. O., Dunich A. A., Gorobets V. F., Konup A. I., Zaimenko N. V., Kozub N. O., Dashchenko A. V., Chistyakova V. L., Shcherbakova T. O., Sovinska R. S. First report of grapevine leafroll-associated virus-3 on peony plants in Ukraine. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 2023. Vol. 130. P. 189–198 <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00665-w>
  17. Samuitienė M., Navalinskienė M. Molecular detection and characterization of phytoplasma infecting *Celosia argentea* L. plants in Lithuania. *Agronomy Research*. 2006. Spec. iss. 4. P. 345–348.
  18. Samuitiene M., Navalinskiene M., Davis R. E., Jomantiene R. Molecular characterization of phytoplasmas of subgroup 16SrI–A, 16SrI–B, 16SrI–L, and 16SrI. Minfecting ornamental plants in Lithuania. *Bulletin OEPP/EPPO* 36, 2006.
  19. Schaff D., Lee I.-M., Davis R. E. Sensitive detection and identification of mycoplasma-like organisms in plants by polymerase chain reactions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1992. Vol. 186, iss. 3. P. 1503–1509. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(05\)81576-1](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(05)81576-1)
  20. Seemüller E., Schneider B., Maurer R., Ahrens U., Daire X., Kison H., Lorenz K.-H., Firrao G., Avinent L., Sears B. B., Stackebrandt E. Phylogenetic classification of phytopathogenic mollicutes by sequence analysis of 16S ribosomal DNA. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1994. Vol. 44, iss. 3. P. 440–446. <https://doi.org/10.1099/00207713-44-3-440>

## REFERENCES

1. Konup AI, Mulyukina NA, Konup LO. Vyivlennia virusnykh, bakterialnykh i fitoplazmovykh khvorob vynohradnykh roslyn na vynohradnykakh Odeskoi oblasti ta yikhnia diahnozyka [Detection of viral, bacterial and phytoplasma diseases of grape plants in vineyards of Odessa region and their diagnostics]. *Bulletin of Agricultural Science*. 2019;4:24–29. <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk201904-04> [in Ukrainian].



2. Pikovskyi MY, Kyryk MM, Shevchuk VK, Konup LO, Melnyk VI, Azaiki SS. Khvoroby kvitkovo-dekoratyvnykh roslyn [Diseases of flower and ornamental plants]. Kyiv: Yamchynskyi OV; 2022. 379 p. [in Ukrainian].
3. Pikovskyi MY, Kyryk MM, Konup LO. Patolohiia nasinnia silskohospodarskykh kultur [Pathology of agricultural crop seeds]. Kyiv: RVV NUBiP Ukrainy; 2023. 343 p. [in Ukrainian]
4. Bejat A, Clair D, Angelini E, Boudon-Padieu E. Etude comparative de methods d'extraction et de detection moleculaire de phytoplasmes dans la pervenche de Madagascar et dans la vigne. 5eme congres de la Societe francaise de phytopathologie. Programme et resumes des communications; Angers, France; 26–29 mars 2001. Angers, France ; 2001. p. 22.
5. Bertaccini A, Vibio M, Stefani E. Detection and molecular characterization of phytoplasmas infecting grapevine in Liguria (Italy). *Phytopathologia Mediterranea*. 1995;34:137–141.
6. Davis MJ, Tsai OP, Cox RL, McDaniel LL, Harrison NA. Cloning of chromosomal and extrachromosomal DNA of the mycoplasma-like organism that causes maize bushy stunt disease. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 1988;1:295–302.
7. Davis RE, Prince O3, Hammond RW, Dally EL, Lee I-M. Polymerase chain reaction detection of Italian periwinkle virescence mycoplasma-like organisms (MLO) and evidence for relatedness with aster yellows MLOs. *Petria*. 1992; 2:183–192.
8. Davis RE, Jomantiene R, Dally EL. Interoperon sequence heterogeneity and differential PCR-mediated amplification of sequences from the two rRNA operons in phytoplasma. 12th International Organization for Mycoplasma Conference; Sydney, Australia; 22-28 July 1998. Sydney, Australia; 1998. p. 173.
9. Hren M, Boben J, Rotter A, Kralj P, Gruden K, Ravnikar M. Real-time PCR detection systems for Flavescence dorée and Bois noir phytoplasmas in grapevine: comparison with conventional PCR detection and application in diagnostics. *Plant Pathology*. 2007;56:785–796. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2007.01688.x>
10. Kamińska M. Phytoplasma diseases of ornamental plants in Poland. *Zeszyty Naukowe Instytutu Sadownictwa i Kwiaciarnictwa*. 2000;7:79–86.
11. Kovaleva IA, Janse LA, Konup LA, Zelenyanskaya NN, Vlasov VV, Konup AI, Muljukina NA, Kyryk NN, Pikovskyi MY. Detection of the infection of the Caberne Sauvignon variety of clone origin by grape viruses. *Cytology and Genetics*. 2022;56(6):504–512. <https://doi.org/10.3103/S0095452722060044>
12. Lee I-M, Gundersen-Rindal DE, Davis RE, Bartoszyk IM. Revised classification scheme of Phytoplasmas based on RFLP analyses of 16 rRNA and ribosomal prosomal protein gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 1998;48:1153–1169. <https://doi.org/10.1099/00207713-48-4-1153>
13. Lee I-M, Gundersen-Rindal DE, Davis RE, Bottner KD, Marcone C, Seemüller E. 'Candidatus Phytoplasma asteris' a novel phytoplasma taxon



- associated with aster yellows and related diseases. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2004;54:1037–1048.
14. Lee I-M, Davis R. *Mycoplasmas*. Molecular Biology and Pathogenicity. Washington, DC: ASM; 1992. p. 379–390.
  15. Marcone C, Lee I-M, Davis RE, Ragozzino A, Seemüller E. Classification of aster yellows–group phytoplasmas based on combined analyses of RNA and tuf gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2000;50:1703–1713. [https://doi: 10.1099/00207713-50-5-1703](https://doi.org/10.1099/00207713-50-5-1703)
  16. Mishchenko LT, Konup LO, Dunich AA, Gorobets VF, Konup AI, Zaimenko NV, Kozub NO, Dashchenko AV, Chistyakova VL, Shcherbakova TO, Sovinska RS. First report of grapevine leafroll-associated virus-3 on peony plants in Ukraine. *Journal of Plant Diseases and Protection*. 2023;130:189–198. <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00665-w>
  17. Samuitienė M, Navalinskienė M. Molecular detection and characterization of phytoplasma infecting *Celosia argentea* L. plants in Lithuania. *Agronomy Research*. 2006;4:345–348.
  18. Samuitiene M, Navalinskiene M, Davis RE, Jomantiene R. Molecular characterization of phytoplasmas of subgroup 16SrI–A, 16SrI–B, 16SrI–L, and 16SrI–M infecting ornamental plants in Lithuania. *Bulletin OEPP/EPPO* 36. 2006.
  19. Schaff D, Lee IM, Davis RE. Sensitive detection and identification of mycoplasma-like organisms in plants by polymerase chain reactions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1992;186(3):1503–1509. [https://doi: 10.1016/s0006-291x\(05\)81576-1](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(05)81576-1)
  20. Seemüller E, Schneider B, Maurer R, Ahrens U, Daire X, Kison H, Lorenz K-H, Firrao G, Avinent L, Sears BB, Stackebrandt E. Phylogenetic classification of phytopathogenic mollicutes by sequence analysis of 16S ribosomal DNA. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1994;44(3):440–446. <https://doi.org/10.1099/00207713-44-3-440>

Стаття надійшла до редакції 10.03.2026  
Стаття затверджена до друку 23.04.2026  
Стаття опублікована 29.05.2026

