

https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-4-88-92
УДК 635.64:632.38

Бахшиев А.Г., Заморзаева И.А.,
Михня Н.И.

Институт Генетики,
Физиологии и Защиты Растений
Ул. Пэдурий, 20, МД-2002, Кишинев, Молдова
E-mail: aighiuni93@mail.ru

Благодарность

Представленная работа выполнена в рамках национального Проекта фундаментальных научных исследований 15.817.05.10F «Технологии молекулярной диагностики фитопатогенов», финансируемого из государственного бюджета Молдовы, и билатерального Проекта УНТЦ № 6378 «Разработка новой методики оценки устойчивости томатов к фитоплазме», финансируемого Европейским Союзом и Республикой Молдова.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Бахшиев А.Г., Заморзаева И.А., Михня Н.И. Молекулярная диагностика заражения некоторых молдавских сортов томата фитоплазмой. *Овощи России*. 2020;(4):88-92. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-4-88-92>

Поступила в редакцию: 27.04.2020
Принята к печати: 02.07.2020
Опубликована: 25.08.2020

Aighiuni G. Bahsiev, Irina A. Zamorzaeva,
Nadejda I. Mihnea

Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection
20 Padurii St., MD-2002, Chisinau, Moldova
E-mail: aighiuni93@mail.ru

Acknowledgment. This study was carried out within the framework of the National Project of Fundamental Scientific Research 15.817.05.10F «Technologies for molecular diagnostics of phytopathogens», funded from the state budget of Moldova, and the bilateral project STCU #6378 «Development of a new technique for assessing the resistance of tomatoes to the phytoplasma», funded by the European Union and the Republic of Moldova.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

For citation: Bahsiev A.G., Zamorzaeva I.A., Mihnea N.I. Molecular diagnosis of phytoplasma infection in some Moldavian tomato varieties. *Vegetable crops of Russia*. 2020;(4):88-92. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-4-88-92>

Received: 27.04.2020
Accepted for publication: 02.07.2020
Accepted: 25.08.2020

Молекулярная диагностика заражения некоторых молдавских сортов томата фитоплазмой



РЕЗЮМЕ

Актуальность. Применение молекулярных методов позволяет более надежно и быстро определять устойчивые к патогенам генотипы (сорта), сокращая, таким образом, возможные потери продукции и, при этом, сохраняя её экологическую безопасность. Это очень важно в условиях возрастающего спроса на качественные сельскохозяйственные продукты. Цель: использование молекулярной диагностики '*Candidatus Phytoplasma solani*' для сравнения степени заражения некоторых молдавских сортов томата на разных стадиях развития растений.

Материалы и методика. В течение двух сезонов вегетации был проведен молекулярный анализ (нестед-ПЦР) растений четырех молдавских сортов томата (Elvira, Cerasus, Mary Gratefully, Desteptarea), созданных в Институте Генетики, Физиологии и Защиты Растений, и дикой формы *Solanum habrochaites*, на присутствие фитопатогена '*Ca. P. solani*'.

Результаты. Обнаружено, что распределение инфекции между изученными сортами было различным в процессе развития растений. Учет распространения инфекции на томатном поле проводили в климатических условиях двух сезонов вегетации: сезона 2018 года, который был жарким, но с нормальным количеством осадков в середине лета, и сезона 2019 года, в условиях очень жаркого и засушливого лета. В течение обоих сезонов сорт Cerasus проявил наибольшую устойчивость к инфекции '*Ca. P. solani*', немногим более половины растений этого сорта были поражены столбуром только в конце периода вегетации, после сбора основной части урожая. Сорта Elvira и Desteptarea имели сходные показатели уровня зараженности растений фитоплазмой в течение двух лет исследований. Эти сорта проявили гораздо большую чувствительность к фитоплазменной инфекции по сравнению с сортом Cerasus. Единственным генотипом, чувствительность которого к инфекции '*Ca. P. solani*' сильно зависела от климатических условий сезона вегетации, оказался сорт Mary Gratefully. Растения дикой формы *Solanum habrochaites* проявили полную невосприимчивость к фитоплазменной инфекции в течение всего периода вегетации.

Выводы. Сорт Cerasus, наряду с дикой формой *Solanum habrochaites*, может быть рекомендован для включения в селекционные программы по созданию устойчивых к фитоплазме сортов или гибридов томата. Молекулярная диагностика может служить полезным инструментом в процессе селекции устойчивых генотипов.

Ключевые слова: '*Candidatus Phytoplasma solani*', молекулярная диагностика, томат, столбур, устойчивость

Molecular diagnosis of phytoplasma infection in some Moldavian tomato varieties

ABSTRACT

Relevance. The use of molecular methods allows reliable and fast determination of the resistance of genotypes (varieties) to pathogens, thereby reducing possible product losses and, at the same time, maintaining its environmental safety. It is very important in conditions of increasing demand for high-quality agricultural production. Aim: Using molecular diagnosis of '*Candidatus Phytoplasma solani*' to compare the degree of infection in some Moldavian tomato varieties at different stages of plant development.

Material and methods. The molecular analysis (nested-PCR) of plants of the four Moldavian tomato varieties (Elvira, Cerasus, Mary Gratefully, Desteptarea) created at the Institute of Genetics, Physiology and Plant Protection, and the wild form *Solanum habrochaites*, was carried out for the presence of the phytopathogen '*Ca. P. solani*'. Researches were made during two growing seasons.

Results. The distribution of infection between the studied varieties was different in the process of plants development. The spread of infection in the tomato field was recorded under the climatic conditions of two growing seasons: the season of 2018, which was hot but with normal rains in the middle of summer, and the season of 2019, in conditions of a very hot and dry summer. During both seasons, Cerasus variety manifested the highest resistance to '*Ca. P. solani*' infection. A little more than half of plants of this variety were affected by stolbur only at the end of the growing season, after harvesting most of the crop. Varieties Elvira and Desteptarea had similar levels of infection of plants with phytoplasma during two years of research. These varieties manifested a higher sensitivity to phytoplasma infection compared with Cerasus. Mary Gratefully was the genotype with the highest dependence of the sensitivity to '*Ca. P. solani*' infection from the climatic conditions of the growing season. Plants of the wild form *Solanum habrochaites* demonstrated complete immunity to phytoplasma infection during the growing season.

Conclusion. The Cerasus variety, as well as the wild form *Solanum habrochaites*, can be recommended for including in breeding programs for the creating tomato varieties or hybrids resistant to phytoplasma. Thus, molecular diagnosis may be a useful tool for the breeding resistant genotypes.

Keywords: '*Candidatus Phytoplasma solani*', molecular diagnosis, tomato, stolbur, resistance.

Введение

Столбур – одно из распространенных заболеваний томата, вызываемое фитопатогеном '*Candidatus Phytoplasma solani*'. Оно существенно поражает растения, приводя к значительным экономическим потерям за счёт снижения количества и качества продукции [1]. Данное заболевание характеризуется рядом симптомов, таких как карликовость растений, позеленение и срастание лепестков, одревеснение стеблей и плодов. На стеблях могут формироваться уплотнения (узелки), плоды пораженных растений становятся мельче и имеют характерную ребристость. Симптомы фитоплазменной инфекции становятся заметными на поздних стадиях развития растений, когда имеет место системное заражение [2]. Основными переносчиками столбура являются насекомые из семейств *Psyllidae*, *Cicadelidae* и *Cixiidae* [3]. Сорняки также влияют на распространение фитоплазмы, являясь промежуточным хозяином, на котором зимуют насекомые-векторы [4].

Морфологическая диагностика столбура возможна на сравнительно поздних стадиях развития растений, когда проявляются специфические признаки заболевания. Таким образом, определение заражения в начале болезни затруднено [5]. Также идентификацию фитоплазмы

ских сортов томата на разных стадиях развития растений.

Материалы и методы

Молекулярная диагностика '*Candidatus Phytoplasma solani*' проводилась на растениях томата, выращиваемых в поле. Был проведен анализ и сравнение результатов, полученных в течение двух сезонов вегетации – 2018 и 2019 годов. Схема исследований в целом была сходной в оба сезона. Были проанализированы томаты 4 сортов: Elvira, Cerasus, Mary Gratefully и Desteptarea, созданные в Институте Генетики, Физиологии и Защиты Растений (Кишинев, Молдова). В сезоне 2019 года в схему экспериментов была дополнительно включена дикая форма томата *Solanum habrochaites*, которая, как предполагалась, могла служить в качестве контрольного варианта. Для анализа в начале полевого сезона были выбраны в случайном порядке и пронумерованы по 20 (2018 год) или 12 (2019 год) растений из каждого генотипа. Исследования проводили на разных стадиях развития этих растений в период вегетации с июля по сентябрь. ДНК для молекулярного анализа выделяли из отдельных растений с помощью щелочного экспресс метода [14]. Материалом для выделения ДНК служили тонкие срезы плодоножек. Молекулярную диагностику фитоплазменной инфекции проводили с помощью нестед-ПЦР анализа с использованием

Таблица 1. Праймеры для определения '*Candidatus Phytoplasma solani*'
Table 1. Primers for '*Candidatus Phytoplasma solani*' identification

Праймер	5 -3 последовательность	Раунд	Фрагмент, п.н.	Т пл. °С
cpn421F	AGCGCAAAGTATGATTCATCGTGG	1	421	60
cpn421R	AAGAGGTAAATTTCTTGGATCGTGC	1		61
cpn200F	TTAAGAAGGGATCGAACTTGC	2	200	59
cpn200R	AAAACTTTTGGACTCATCGACA	2		60

затрудняет невозможность культивирования ее в условиях *in vitro* [6,7]. В то же время, молекулярные методы позволяют достоверно и быстро определять появление фитоплазменной инфекции на начальных стадиях развития растений. Одним из преимуществ использования молекулярной диагностики, в особенности нестед-ПЦР анализа, является возможность определения заражения даже тогда, когда титр ДНК фитопатогена в пробах не высок [8,9].

Основными мерами борьбы со столбуром служат обработки полей инсектицидами, гербицидами, антибактериальными препаратами, а также применение некоторых других агрономических приемов. Данные меры позволяют уменьшить ущерб от болезни, но оказывают негативное действие на окружающую среду и здоровье человека [10]. Одним из перспективных путей в борьбе со столбуром является создание и использование устойчивых к фитоплазме сортов томата. Следует подчеркнуть, что селекция томата на невосприимчивость к заражению фитоплазмой имеет ряд преимуществ как с точки зрения экономики, так и экологии [11,12]. Использование при этом молекулярных методов диагностики, в особенности ПЦР анализа, позволяет в более короткий срок и более точно осуществлять определение степени заражения селекционного материала и полученных в результате селекции сортов томата [13].

Основной целью представленной работы являлось использование молекулярной диагностики '*Ca. P. solani*' для сравнения степени заражения некоторых молдав-

специфичных для '*Ca. P. solani*' праймеров, созданных на основе нуклеотидной последовательности шаперонинового гена (табл. 1).

Программа амплификации была следующей: I – 94°C 5'; II – 94°C 30", 58°C 30", 72°C 30" x 30 (1 раунд) или x35 (2 раунд); III – 72°C 10'; IV – 4°C ∞. Визуализацию результатов ПЦР проводили с помощью электрофореза амплифицированных фрагментов, окрашенных бромистым этидием, в 1,5% агарозном геле (буферный раствор 1xTBE). Размер полученных фрагментов определяли с помощью маркера длин фрагментов ДНК *O'Gene Ruler 100 bp DNA Ladder Plus* в ультрафиолете. Статистическая обработка данных была выполнена с использованием критерия Фишера.

Результаты и обсуждение

Молекулярную диагностику '*Candidatus Phytoplasma solani*' на томатах проводили на трех стадиях развития растений: в июле – на стадии начала созревания плодов, в августе – на стадии массового созревания плодов, и в сентябре – в конце вегетационного периода после сбора значительной части урожая плодов.

Важно отметить, что климатические показатели лета 2019 года (сильная жара и засуха) были не слишком благоприятными, что повлияло на более позднее развитие растений и смещение фаз роста и развития томатов по сравнению с предыдущим, 2018, годом, который был жарким, но с нормальным количеством осадков в середине лета. Данные изменения учитывались при сборе растительного материала и последующем анализе.

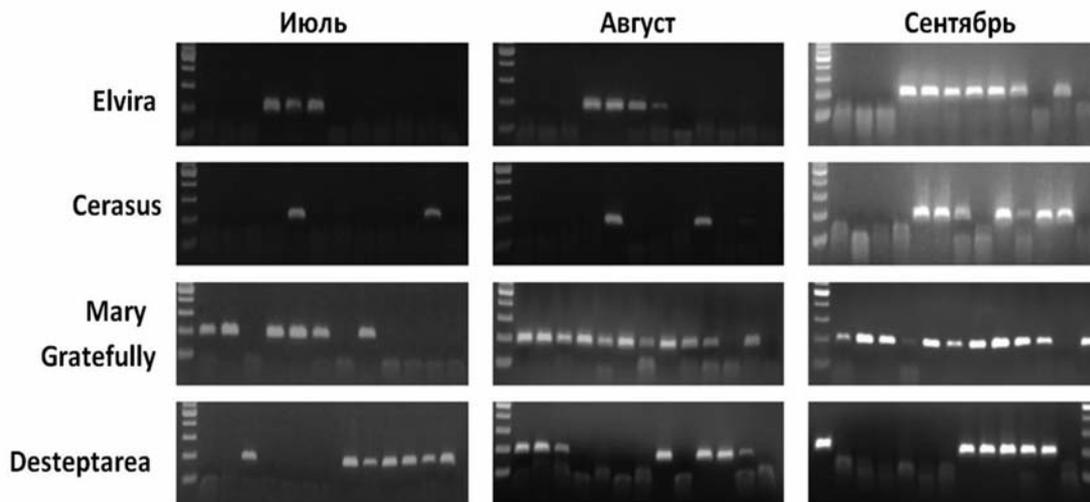


Рис. 1. Результаты вложенно-ПЦР анализа для определения 'Ca. P. solani' (фрагмент 200 п.н.) на ДНК, выделенной из плодonoжек четырех сортов томата в разные периоды развития растений (сезон вегетации 2019 года)
 Fig. 1. Results of nested-PCR analysis (fragment 200 b.p.) for 'Ca. P. solani' detection at DNA extracted from tomato peduncles at different stages of plants development (growing season of 2019)

Для учета количества зараженных растений в каждом генотипе число фрагментов (ампликонов длиной 200 п.н., являющихся положительным сигналом заражения растения фитоплазмой) на электрофореграммах подсчитывалось отдельно по сезонам вегетации и месяцам сбора растительного материала, суммировалось и сравнивалось. На рисунке 1 в качестве примера представлены результаты молекулярной диагностики 'Ca. P. solani' у томатов 4 сортов молдавской селекции в 2019 году. Результаты вложенно-ПЦР анализа дикой формы *Solanum habrochaites* не представлены на рисунке 1, так как фрагмент размером 200 п.н. не был обнаружен ни на одном из соответствующих агарозных гелей.

Прежде всего, было проанализировано и сравнивалось распространение столбура на томатном поле в целом, без учета сортов, в течение периодов вегетации 2018 и 2019 годов (рис. 2). Сравнивая суммарные данные по распространению фитоплазмы на томатном поле, полученные в течение 2018 и 2019 годов, можно заметить, что разница между уровнем зараженности растений не была очень значительной, будучи максимальной в июле, на стадии начала созревания плодов. А именно, процент зараженности томатов 'Ca. P. solani' в июле 2019 года был выше, чем в июле 2018 года, однако в дальнейшем процент инфицированных растений в 2019 году не увеличивался в той же степени, что в 2018 году. Это может быть обусловлено тем, что высокие температуры в сочетании с сильной засухой негативно повлияли не только на разви-

тие растений, но и на активность насекомых-переносчиков, что снизило последующее распространение инфекции в августе-сентябре 2019 года.

Детальный анализ распространения столбура среди растений томата отдельных сортов позволил выявить существенную разницу в чувствительности этих сортов к фитоплазменной инфекции, причем разница наблюдалась в течение обоих сезонов вегетации. В таблице 2 представлены данные, полученные в результате молекулярной

Таблица 2. Результаты идентификации фитоплазменной инфекции в растениях разных генотипов томата в 2018 и 2019 году
 Table 2. Results of the identification of phytoplasma infection in plants of different tomato genotypes in 2018 and 2019

Сорт	Степень распространения заболевания на поле (%)					
	2018			2019		
	Июль	Август	Сентябрь	Июль	Август	Сентябрь
Elvira	35	85	85	25	50	58
Cerasus	5	35	55	25	25	58
Mary Gratefully	XX	50	70	50	92	92
Desteptarea	30	80	80	50	58	58
<i>Solanum habrochaites</i>	XX	XX	XX	0	0	0

XX - молекулярная диагностика фитоплазменной инфекции в данных вариантах не проводилась

идентификации инфекции 'Ca. P. solani' в растениях томата пяти изучаемых генотипов на разных стадиях сезонов вегетации 2018 года и 2019 года.

То, что инфекция 'Ca. P. solani' вообще не была обнаружена в растениях дикой формы *Solanum habrochaites* в течение всего сезона вегетации, является важным результатом. Невосприимчивость растений дикой формы томата к заражению фитоплазмой может быть обусловлена как морфофизиологическими особенностями, такими как густое опушение стеблей и листьев, являющееся механическим барьером для мелких насекомых-переносчиков, так и возможной выработкой растениями специфических репеллентов, являющихся токсичными для этих насекомых [15]. Следовательно, *Solanum habrochaites* может быть использован в будущем при оценке чувствительности сортов и гибридов томата к 'Ca. P. solani' в качестве конт-

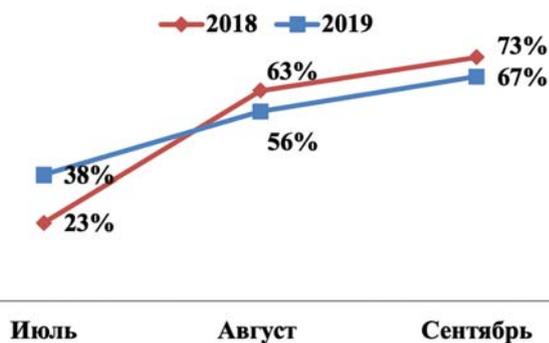


Рис. 2. Суммарные данные по распространению 'Ca. P. solani' на томатном поле в 2018 и 2019 годах
 Fig. 2. Summarized data of the spread of 'Ca. P. solani' in tomato field in 2018 and 2019

рольного варианта. Также полезным представляется использование этого генотипа селекционерами в качестве материала для гибридизации при создании устойчивых к фитоплазме сортов.

Молекулярная диагностика зараженности четырех сортов томата фитоплазмой в течение двух сезонов вегетации продемонстрировала выраженные различия. В июле 2019 года, на стадии начала созревания плодов, половина растений двух сортов томата, Desteptarea и Mary Gratefully, была поражена столбуром. В сортах Elvira и Cerasus процент зараженных растений был значительно ниже, составляя всего 25%. В условиях 2018 года очень незначительное заражение было зафиксировано у сорта Cerasus (5%) и меньший процент зараженных растений наблюдался у сорта Desteptarea (30% в 2018 году против 50% зараженных растений в 2019 году).

Наибольшие различия между степенью зараженности растений разных сортов томата фитоплазмой наблюдались в период массового созревания плодов, в августе, причем влияние условий года на реакцию растений разных сортов было неоднозначным (см. табл.2, рис. 3).

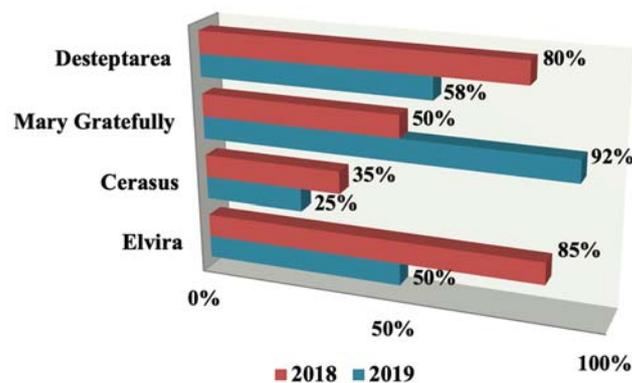


Рис. 3. Распространение 'Ca. P. solani' на томатном поле в период массового созревания плодов, в августе 2018 и 2019 годов
Fig.3. Spread of 'Ca. P. solani' in tomato field at the period of mass fruit ripening, in August of 2018 and 2019

В 2018 году сорта Elvira и Desteptarea были более существенно поражены фитоплазменной инфекцией, что составило 85% и 80%, соответственно. Сорт томата Mary Gratefully продемонстрировал более низкие показатели заражения в сравнении с 2019 годом – только половина растений этого сорта была заражена 'Ca. P. solani'. Низкий процент заражения растений фитоплазменной инфекцией наблюдался также в сорте Cerasus (35%). В августе 2019 года, на стадии массового созревания плодов, количество зараженных фитоплазмой растений сорта Desteptarea возросло, в отличие от 2018 года, незначительно, достигнув уровня 58%. У сорта Elvira процент зараженных растений увеличился в августе 2019 года вдвое, достигнув 50%, что тоже было меньше, чем в 2018 году. Таким образом, динамика распространения инфекции между растениями сортов Desteptarea и Elvira совпала и погодные условия года (сезона вегетации) влияли на распространение фитоплазмы у этих сортов одинаковым образом. В то же время, процент инфицированных фитоплазмой растений томата сорта Mary Gratefully увеличился в неблагоприятных условиях 2019 года резко, составив более 90% ($P < 0.05$). И только у сорта Cerasus количество зараженных растений практически не изменилось: как и в июле, всего четверть растений сорта Cerasus была поражена столбуром в августе 2019 года. Таким образом, сорт Cerasus проявил большую устойчивость к заражению 'Ca. P. solani' по сравнению с другими сортами томата, что хорошо согласуется с результатами, полученными в прошлые годы [16].

В конце вегетационного периода, в сентябре, уровень заражения фитоплазмой сортов томата Elvira и

Desteptarea почти не менялся, достигнув одинаковых 58% в 2019 году и около 80-85% – в 2018 году. До этого же уровня в 58%, но более чем в два раза по сравнению с июлем и августом, увеличилось заражение растений сорта Cerasus в сентябре 2019 года. В 2018 году на этом сорте был зафиксирован сходный показатель заражения – около 55%. Процент пораженных столбуром растений сорта Mary Gratefully сохранился к концу вегетационного периода 2019 года на том же высоком уровне, как и в период массового созревания (92%). В условиях 2018 года процент зараженных растений у сорта томата Mary Gratefully в сентябре увеличился до 85%.

Итак, молекулярная диагностика распространения инфекции 'Ca. P. solani' на томатном поле в условиях жаркого и засушливого лета 2019 года показала, что у трех из четырех изученных сортов (Elvira, Desteptarea и Mary Gratefully) максимальные значения уровня заражения были зафиксированы на стадии массового созревания плодов, в августе, и они не увеличивались до конца вегетационного сезона (середина сентября). Схожие результаты были получены у сортов Elvira и Desteptarea в 2018 году, когда

высокие температурные показатели летом сочетались с нормальным количеством осадков. У сорта Cerasus, проявившего себя менее чувствительным к заражению фитоплазмой в июле и августе 2018 и 2019 годов, к концу вегетационного периода наблюдалось некоторое увеличение числа зараженных растений, но почти половина растений в поле осталась здоровой. Однако после периода массового созревания и сбора основного урожая плодов, которое имело место в августе, заражение растений сорта Cerasus в сентябре не могло существенно ухудшить показатели продуктивности и товарности плодов. Несомненно, сорт Cerasus, наряду с дикой формой *Solanum habrochaites*, может быть рекомендован для включения в селекционные программы по созданию устойчивых к фитоплазме сортов томата.

Заключение

Молекулярная диагностика распространения столбура на томатном поле позволила обнаружить, что степень заражения изученных генотипов 'Ca. P. solani' различалась на протяжении периода вегетации. Наиболее существенные различия по зараженности сортов были отмечены в августе, в период массового созревания плодов.

Проведенные исследования позволили выявить генотипы, которые были более восприимчивы и более устойчивы к заражению 'Ca. P. solani' в 2018 и 2019 годах. Прежде всего, было показано, что Cerasus проявил самую большую устойчивость к заражению 'Ca. P. solani' среди исследованных сортов, сравнительно более высокий уровень поражения растений этого сорта столбуром был

отмечен только в конце периода вегетации, в сентябре, при этом зараженными оказались чуть более половины растений. Надо отметить, что эти результаты хорошо согласуются с данными, полученными при анализе растений сорта Cerasus в предыдущие годы. Таким образом, сорт Cerasus может быть рекомендован селекционерам в качестве генетического материала при создании устойчивых к фитоплазме генотипов (гибридов, сортов). Кроме того, использование этого более устойчивого к фитоплазме сорта непосредственно в сельскохозяйственном производстве может быть экономически выгодно для аграриев за счет увеличения качества и количества собранных плодов.

Сорта Elvira и Desteptarea имели сходные показатели уровня зараженности растений фитоплазмой в течение двух лет исследований. Эти сорта проявили гораздо большую чувствительность к фитоплазменной инфекции по сравнению с сортом Cerasus, особенно заметной была разница в уровне распространения инфекции в период массового созревания плодов. Можно сделать вывод, что степень устойчивости сортов Elvira и Desteptarea к 'Ca. P. solani' ниже, чем сорта Cerasus и, особенно, дикой формы томата *Solanum habrochaites*.

Единственным генотипом, чувствительность которого к инфекции 'Ca. P. solani' сильно зависела от климатических

условий сезона вегетации, оказался сорт Mary Gratefully. Было обнаружено, что в неблагоприятных климатических условиях лета 2019 года он был наиболее чувствительным к фитоплазме, степень его заражения была значительно выше по сравнению с другими сортами, причем это отмечалось уже в августе, на стадии массового созревания плодов. Напротив, в августе 2018 года этот сорт оказался менее подвержен поражению столбуром, меньшее число зараженных растений было зарегистрировано в этот период только у наиболее устойчивого к фитоплазме сорта Cerasus.

Растения дикой формы томата *Solanum habrochaites* оказались полностью невосприимчивы к фитоплазме, молекулярная диагностика не выявила ни одного зараженного 'Ca. P. solani' растения данного генотипа на протяжении всего периода вегетации. Данная форма может быть рекомендована для селекционеров как генетический материал для создания более устойчивых к фитоплазме гибридов или сортов томата, а также в качестве контрольного варианта при оценке чувствительности созданных или уже имеющихся сортов.

Резюмируя вышесказанное, можно сделать вывод, что молекулярная диагностика является полезным инструментом в процессе селекции сортов или гибридов томата, устойчивых к заражению фитоплазмой.

Об авторах:

Бахшиев Айгюнь Гидаятовна – младший научный сотрудник лаб. молекулярной генетики, <https://orcid.org/0000-0002-1915-7652>
Заморзаева Ирина Александровна – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаб. молекулярной генетики
Михня Надежда Ильинична – доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаб. прикладной генетики

About the authors:

Aighiuni Gh. Bahsiev – Junior Researcher Dep. Molecular Genetics, <https://orcid.org/0000-0002-1915-7652>
Irina A. Zamorzaeva – Doc. Sci. (Biology), Leading Researcher, Dep. molecular genetics
Nadejda I. Mikhnya – Doc. Sci. (Biology), Leading Researcher, Dep. applied genetics

● Литература / References

1. Çağlar BK, Elbeaino T, Küsek M, Pehlivan D, Fidan H, Portakaldal M. Stolbur phytoplasma infections in potato and tomato plants from different locations in Turkey. *J. Turk. Phytopath.* 2010;39(1-3):1-8. ISSN 0378–8024 2010 [cited 2020 Apr 15]. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/264508571>
2. Bertaccini A., Duduk B. Phytoplasma and phytoplasma diseases: a review of recent research. *Phytopathol Mediterr [Internet]*. [cited 2020 Apr 15] 2010;48(3):355–78. Available from: <http://www.fupress.net/index.php/pm/article/view/3300>
3. Rojas-Martínez RI. Insect vectors of phytoplasmas. Tropical biology and conservation management. [cited 2020 Apr 15]. Available from: <https://www.eolss.net/Sample-Chapters/C20/E6-142-TPE-10.pdf> p 46-60
4. Lee I-M., Davis R.E., Gundersen-Rindal D.E. Phytoplasma: Phytopathogenic Mollicutes. *Annu Rev Microbiol [Internet]*. 2000 Oct 28 [cited 2020 Apr 15]. 2000;54(1):221–55. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.micro.54.1.221>
5. Davis R.E., Sinclair W.A. Phytoplasma identity and disease etiology. In: *Phytopathology. American Phytopathological Society*. 1998. P.1372–6.
6. Firrao G, Andersen M, Bertaccini A, Boudon E, Bové JM, Daire X, et al. "Candidatus Phytoplasma", a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonize plant phloem and insects. *Int J Syst Evol Microbiol [Internet]*. 2004 Jul [cited 2020 Apr 15]. 2004;54(4):1243–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15280299>
7. Kube M. Insights in host dependency encoded within phytoplasma genomes. *Bull Insectology*. 2011;64:9–11. Request PDF [Internet]. [cited 2020 Apr 15]. Available from: https://www.researchgate.net/publication/228520757_Insights_in_host_dependency_encoded_within_phytoplasma_genomes
8. Dickinson M, Tuffen M, Hodgetts J. The Phytoplasmas: An Introduction. In: *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ) [Internet]. 2013 [cited 2020 Apr 15]. P.1–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22987401>
9. Bertaccini A., Duduk B., Paltrinieri S., Contaldo N. Phytoplasmas and Phytoplasma Diseases: A Severe Threat to Agriculture. *Am J Plant Sci [Internet]*. 2014 [cited 2020 Apr 15]; 2014;05(12):1763–88. Available from: <http://www.scirp.org/journal/doi.aspx?DOI=10.4236/ajps.2014.512191>
10. Manczinger L., Antal Z., Kredics L. Ecophysiology and breeding of mycoparasitic Trichoderma strains. *Acta Microbiol Immunol Hung.* 2002;49(1):1–14.
11. Thomas P.E., Mink G.I. Tomato hybrids with nonspecific immunity to viral and mycoplasma pathogens of potato and tomato. *HortScience*. 1998 Jul;33(4):764–5.
12. Gavrilescu M, Chisti Y. Biotechnology - A sustainable alternative for chemical industry. Vol. 23, *Biotechnology Advances. Elsevier Inc.* 2005. P.471–99.
13. Marcone C., Rao G.P. Control of phytoplasma diseases through resistant plants. In: *Phytoplasmas: Plant Pathogenic Bacteria - II: Transmission and Management of Phytoplasma - Associated Diseases. Springer Singapore*. 2019. P.165–84.
14. Guo Y., Cheng Z.M., Walla J.A. Rapid PCR-based Detection of Phytoplasmas from Infected Plants. *HortScience*. 2003 Oct;38(6):1134–6.
15. Avila C.A., Marconi T.G., Viloria Z., Kurpis J., Del Rio S.Y. *Bactericera cockerelli* resistance in the wild tomato *Solanum habrochaites* is polygenic and influenced by the presence of *Candidatus Liberibacter solanacearum*. *Sci Rep*. 2019 Dec 1;9(1):1–11.
16. Zamorzaeva I., Bahsiev A., Mihnea N. Spread of phytoplasma infection in the tomato field depending on the climatic conditions of the year. In: *Материалы II Международной научной конференции «Тенденции развития агрофизики: от актуальных проблем земледелия и растениеводства к технологиям будущего»*. Санкт-Петербург: ФГБУ АФИ. 2019. P.662-668. ISBN 978-5-905200-40-3. [Zamorzaeva I., Bahsiev A., Mihnea N. Spread of phytoplasma infection in the tomato field depending on the climatic conditions of the year. In: *Materials of the II International Scientific Conference "Agrophysical Trends: from Actual Challenges in Arable Farming and Crop Growing towards Advanced Technologies"*. St. Petersburg: FSBSI AFI. 2019. P.662-668. ISBN 978-5-905200-40-3]