УДК 632.35:635.64(477.63)

ДІАГНОСТИКА БАКТЕРІАЛЬНИХ ХВОРОБ РОСЛИН ПОМІДОРІВ В УМОВАХ ВІДКРИТОГО І ЗАКРИТОГО ҐРУНТУ УКРАЇНИ

Ю. В. КОЛОМІЄЦЬ, кандидат біологічних наук, доцент,

І. П. ГРИГОРЮК, доктор біологічних наук, професор

Національний університет біоресурсів та природокористування України

Л. М. БУЦЕНКО, кандидат біологічних наук, доцент

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

E-mail: julyja@i.ua

Анотація. *Основною причиною захворювань сортів рослин помідорів у відкритому і закритому ґрунті України є наявність збудників бактеріального раку Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis, чорної бактеріальної плямистості Xanthomonas vesicatoria та бактеріальної крапчастості Pseudomonas syringae pv. tomato. Характерні симптоми захворювання – в'янення, почорніння судинноволокнистих пучків, чорна плямистість листків й плодів, глибокі виразки на плодоніжках та відмирання рослин. Оприлюднено морфолого-культуральні і фізіолого-біохімічні властивості виділених штамів збудників бактеріальних хвороб помідора. Для діагностики збудників чорної бактеріальної плямистості, бактеріальної крапчастості і бактеріального раку рекомендовано застосування праймерів RST2 і RST3, P1 і P2 та CMM5 і CMM6.*

Ключові слова: *помідор, збудники бактеріальних хвороб, ідентифікація, фізіолого-біохімічні властивості, діагностика*

Актуальність. Бактеріальні хвороби зумовлюють некроз серцевини стебла, бактеріальну плямистість листків, крапчастість (плямистість) і вершинну гниль плодів, водянисту гниль стебел й плодів, бактеріальне в'янення (бура гниль) стебел та рак коренів рослин помідорів.

Частота і інтенсивність спалаху хвороб у регіонах вирощування помідорів, зокрема в Одеській, Запорізькій, Миколаївській, Дніпропетровській й Херсонській областях України різняться за роками, залежать від погодно-кліматичних чинників та ступеня їхньої відповідності екологічним потребам збудника [1].

В умовах відкритого і закритого ґрунту України найбільш поширеною є чорна бактеріальна плямистість. Збудник *Xanthomonas vesicatoria* уражує надземну частину рослин, в результаті чого знижується врожай плодів на 10-20 %. За умов інтенсивного ураження плоди не утворюються, а уражені – втрачають якість і знижуються їхні смакові якості. Висока середньодобова температура повітря спричиняє масове поширення хвороби. Наприкінці вегетації розповсюдження і розвиток чорної бактеріальної плямистості досягає 95 й 40 %, а ступінь ураження плодів – 1,7 %. Найзначніші втрати врожаю прослідковуються у місцях постійного вирощування помідорів і рослин родини Пасльонові, особливо картоплі [2, 3].

Зокрема, у Запорізькій і Дніпропетровській областях України простежується розвиток бактеріальної крапчастості (збудник *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*), яку зумовлює підвищена вологість (60-70 %) і низькі нічні температури повітря (12…15 °С). За таких умов відбувається ураження надземних органів рослин і плодів [3, 4]. За даними фітосанітарного стану агроценозів України і рекомендацій щодо захисту рослин помідорів, бактеріальна крапчастість з'являється у першій декаді липня, а в серпні ураженість становить 10-45 %, максимальна – 68, з розвитком хвороби – 0,3-6, плодів – 0,5-12 % [5].

У 2005 – 2016 рр. в тепличних господарствах України масового поширення набула загибель сортів помідора, яка супроводжувалася в'яненням і підвищенням величин водного дефіциту рослин [6]. Основною причиною бактеріального в'янення помідора в умовах відкритого і закритого ґрунтів є наявність *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* – збудника бактеріального раку помідора. Але він особливо небезпечний у закритому ґрунті, оскільки спричиняє ураження рослин помідора у період їхнього плодоношення. В рослину збудник проникає в основному через механічні пошкодження, а також через корені [7].

Вибір ефективних методів захисту рослин від бактеріальних хвороб обумовлений тривалим латентним періодом розвитку збудників, складністю діагностики в ранній період ураження і численними джерелами інфекції [8]. Головним джерелом інфекції є насіння. Проблему ускладнює відсутність ДСТУ

на зараженість насіннєвого і посадкового матеріалу бактеріальними патогенами. Не менш важливими джерелами інфекції є рослинні залишки і ґрунти, що зумовлюють ранню появу осередків ураження і слугують причиною високого ступеня розвитку хвороб на момент приживлення розсади після посадки та протягом періоду вегетації [8].

Тому у всіх сумнівних випадках для ідентифікації патогена необхідне проведення лабораторних досліджень (морфологічні та біохімічні тести, молекулярна діагностика, імуноферментний аналіз із використанням серологічних сироваток або імуностріпів) [8]. Останнім часом все більшого значення набуває ДНК-діагностика збудників овочевих культур із використанням видів полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР): STS-ПЛР, MLST/MLSA-ПЛР, nested-ПЛР, PRIMS-ПЛР, real-time ПЛР та мультиплексні ПЛР-тест-системи, що дозволяють ідентифікувати одночасно кілька збудників [10, 11].

В Україні молекулярно-діагностичних методів для ідентифікації бактеріальних хвороб рослин помідора не розроблено, а причини ураження рослин оцінюють шляхом набору стандартних фенотипових властивостей, що потребує тривалого часу та залучення нових ознак для їхньої ідентифікації.

Мета дослідження – ідентифікувати і вивчити збудників бактеріальних хвороб рослин помідора в умовах відкритого й закритого ґрунту за допомогою ПЛР.

Матеріали і методи досліджень. Рослини помідорів з ознаками бактеріального ураження отримували упродовж вегетаційного періоду з тепличних господарств Дніпропетровської, Запорізької та Херсонської областей України. Дослідження проводили стандартними мікробіологічними і фітопатологічними методами [12]. Шматочки уражених бактеріями тканин рослин спочатку промивали водогінною нестерильною водою, а потім стерильною, гомогенізували у стерильній ступці і висівали на платівки картопляного агару в чашках Петрі. Колонії бактерій, які виросли, відбирали для подальшого дослідження патогенних, морфологічних, біохімічних та фізіологічних властивостей [12]. Патогенні властивості ізолятів вивчали на плодах та

вегетуючих рослинах помідорів із застосуванням суспензії клітин бактерій титром 10^8 КУО/мл. Плоди заражали уколом через краплю суспензії, стебла – пораненням пастерівською піпеткою, капіляр якої заповнений суспензією клітин, залишали в тканині.

В експериментах використовували колекційні штами фітопатогенних бактерій *Xanthomonas vesicatoria* (Doidge 1920) Vauterin et al. 1995 штам 9098 із колекції відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України; *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith 1910) Davis et al. 1984 штам P8 і *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe 1933) Young et al. 1978 штам Dappg-4 213, які отримано з Інституту пестицидів та захисту рослин (Сербія) та виділені нами в господарствах Дніпропетровської області штами *P. syringae* pv. *tomato* ІЗ-28 і *X. vesicatoria* ІЗ-30.

Виділення ДНК із чистих культур штамів здійснювали за допомогою реактивів ДНК-сорб-Б («АмплиСенс», ФГУН ЦНИИЭ, Роспотребнадзор, Россия) за інструкцією, рослинних тканин помідорів з ознаками бактеріального ураження – за допомогою реактивів ДНК-сорб-С («АмплиСенс», ФГУН ЦНИИЭ, Роспотребнадзор, Россия).

Для діагностики бактеріального раку C. *michiganensis* subsp. *michiganensis* використовували специфічні праймери CMM5 і CMM6 [13], бактеріальної крапчастості *P. syringae* pv. *tomato* – P1 й P2 [13] і чорної бактеріальної плямистості *X. vesicatoria* – RST2 та RST3 [13].

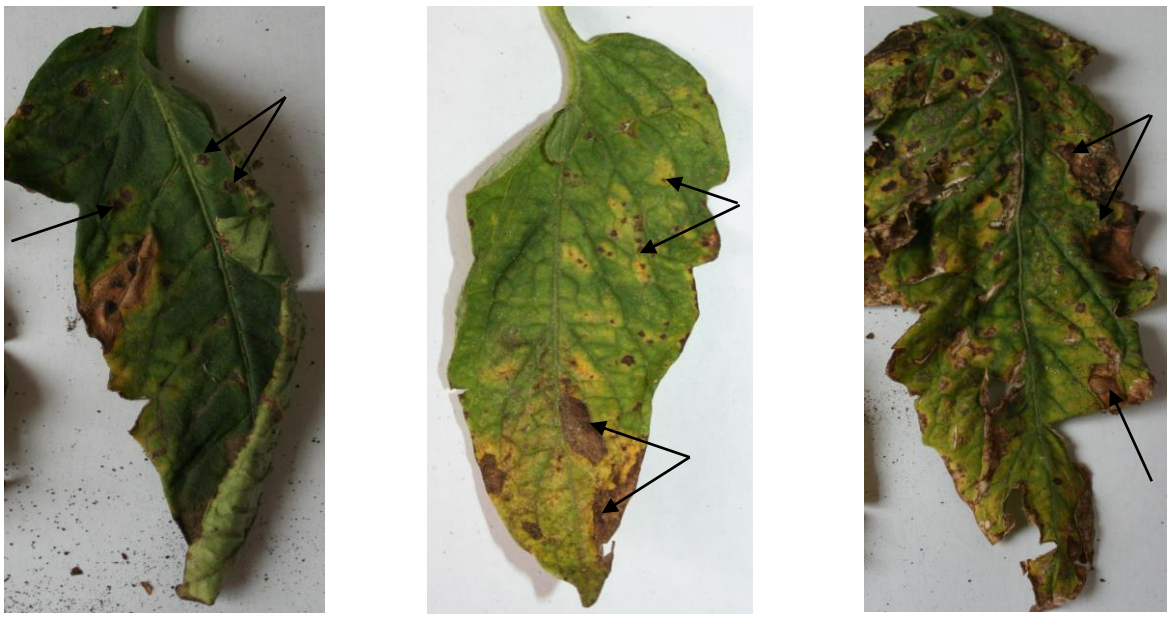
ПЛР здійснювали на ампліфікаторі Gene Amp PCR System 2400 в об’ємі 25 мкл. Продукти ПЛР аналізували в 1,7 % агарозному гелі, який містив бромистий етидій (0,5 мкг/мл). Електрофорез проводили 30 хв за напруги 100 В [13]. Розміри продуктів ампліфікації визначали із залученням маркерів із молекулярною масою GeneRuler 100 bp DNA Ladder та GeneRuler 100 bp Plus DNA Ladder.

Результати досліджень та їх обговорення. У відкритому ґрунті найчастіше траплялися хворі рослини помідорів із симптомами, які найчіткіше виявлялись на листках і плодах. На листках формувались коричневі крапочки (1-2 мм), які оточені хлоротичними ореолами. Поодинокі крапочки зустрічались переважно по

краях листкової пластинки та поблизу жилок. За умов масового ураження майже вся поверхня листка набувала хлоротичного забарвлення. Із часом уражена площа збільшувалась, утворюючи великі плями (рис. 1). Листки рослин набували коричневого забарвлення, які згодом чорніли, засихали і не опадали, хоча рослини поступово гинули.

Із листків зараження переходило на плоди, на поверхні яких чітко виділялись два типи некрозів: припідняті над поверхнею і плоскі (рис. 2). Ущільнені темно-коричневі плями з розірваними краями, що нагадують паршу, утворювали навколо себе водянисті зони (рис. 2, А). Нами відібрано плоди з піднятими темними плямами діаметром 1-5 мм (рис. 2, Б) та дрібними темно-коричневими дещо опуклими крапками (рис. 2, В, Г). Тканина під плямами на зрілих плодах помідорів загнивала.

У закритому ґрунті листки більшості уражених бактеріозами рослин були в’ялими, які скручувалися, набували гофрованого вигляду, набували коричневого забарвлення і всихали. Причиною в’янення і загибелі рослин помідора в теплицях була наявність уражених бактеріальними хворобами провідних судин стебла на поперечних та повздовжніх зрізах (рис. 3). Під впливом бактерій судини спочатку набували жовтуватого або світло-коричневого кольору, потім темнішали і ставали темно-коричневими. Залежно від кількості уражених судин відбувалось в’янення листків або цілісної рослини в результаті системного поширення бактерій спочатку спіральними судинами ксилеми, а потім ситовидними трубками флоеми.



А Б В

Рис. 1. Симптоми бактеріальних хвороб на поверхні листкових пластинок рослин помідора: А – темні плями розміром 3-4 мм; Б – пошкодження, оточені хлоротичною зоною; В – некротичні зони по краю листка.

А Б В Г

Рис. 2. Симптоми бактеріальних хвороб на поверхні незрілих плодів рослин помідора: А – плями з водянистими краями і запалим центром, Б – плями випуклої форми, В – дрібні опуклі крапки 1-5 мм та Г – 1-3 мм.

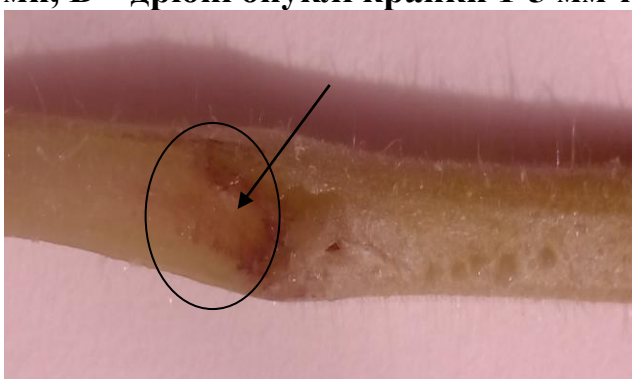


Рис. 3. Симптоми бактеріальних хвороб на провідних судинах стебла рослин помідора.

Стає очевидним, що бактерії механічно закупорюють судини і порушують водний статус рослин. За кількістю і забарвленням уражених судин помідора можна визначати локалізацію й напрям інфекційного процесу.

У відкритому і закритому ґрунті за описаними симптомами інфекцій захворювання рослин помідорів нами віднесено до трьох найбільш шкодочиних в Україні збудників бактеріального раку (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*), бактеріальної крапчастості (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) та чорної бактеріальної плямистості (*Xanthomonas vesicatoria*).

У лабораторних умовах у результаті бактеріологічного аналізу з листків і плодів помідорів з ознаками ураження нами виділено три морфологічні типи ізолятів бактерій (табл. 1).

1. Морфологічні і фізіолого-біохімічні властивості ізолятів, що виділені з уражених бактеріями листків та плодів помідорів

Ознака	**Ізоляти, групи**		
	1	**2**	**3**
Забарвлення за Грамом	–	–	+
Рухливість	+	+	–
Форма клітин	палички	палички	палички
Спороутворення	–	–	–
Флуоресціюючий пігмент	–	+	–
Оксидаза	–	–	–
Каталаза	+	+	+
Пектолітична активність	+	–	–
Утворення левану	+	+	–
Розрідження желатини	–	+	+/-
Відновлення нітратів	–	+	–
Утворення індолу	–	–	–
Утворення сірководню	+	–	–
Реакція надчутливості на тютюні	+	+	–
Штучне зараження рослин помідора	+	+	+
Використання джерел вуглецю: Глюкоза (анаеробно)	–	–	–
Глюкоза (аеробно)	+	+	+
Сахароза	+	+	–
Маноза	+	+	+
Лактоза	–	–	+/-
Галактоза	+	+/-	+

До першого типу нами віднесено круглі, випуклі і жовті з рівними краями слизові колонії, які характерні для *X. vesicatoria*. Вивчення біологічних

властивостей ізолятів проводили порівняно з колекційними штамами і даними визначників бактерій. Показано, що виділені ізоляти бактерій були грамнегативними, оксидазонегативними, каталазо-позитивними, тонкими паличками 0,6 × 1,0-1,5 мкм, малорухливими. У них відсутнє відновлення нітратів і утворення індолу, які продукували кислоту з глюкози, манози, галактози, желатин зріджували повільно, на середовищах з вуглеводами утворювали напівпрозорі колонії.

Ізоляти другого типу сіро-білі, округлі, слабо підняті із гладкою блискучою поверхнею колонії, палички 0,6 × 1,5-3 мкм, рухливі, грамнегативні, за умов росту на середовищі МПБ утворювали муть із плівкою на поверхні, каталазопозитивні, індол не утворювали, продукували кислоту із глюкози, сахарози, інозиту і зумовлювали зелену флуоресценцію середовища МПБ. Установлено, що ізоляти за сукупністю біологічних властивостей ідентичні виду *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Для ідентифікації бактерій *Pseudomonas syringae* часто використовують LOPAT тест. За цими ознаками виділені патогенні бактерії ідентичні *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, оскільки продукували леван, є оксидазонеактивними, не спричиняли мацерації рослинних тканин, не містили аргініндигідролази, здатні викликати реакції надчутливості у листках рослин тютюну.

Ізоляти третього типу круглі опуклі колонії з рівним краєм, непрозорі, жовті, крапле видні і неслизисті, які характерні для *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*. Палички 0,3 × 1,0-1,4 мкм, нерухливі, грампозитивні, які не утворювали леван із сахарози, оксидазонегативні, каталазопозитивні, утилізували цитрат, не гідролізували казеїн, крохмал, продукували кислоту із глюкози та манози.

Для розробки діагностичної системи ідентифікації роду і виду фітопатогенних бактерій основним є підбір праймерів до специфічних ділянок, які кодують чинники патогенності й визначають специфіку ураження рослини-хазяїна. За даними літератури [14], для діагностики представників виду *Xanthomonas vesicatoria* запропоновано використання праймерів, які гомологічні до *hrp*-ділянки геному. Вони кодують білки-ефектори, що пригнічують сигнальні

шляхи імунних реакцій рослин на неспецифічні мікробні речовини MAMPs [14]. ПЛР аналіз ДНК штамів *X. vesicatoria* 9098 та *X. vesicatoria* ІЗ-30 із праймерами RST2 і RST3 виявив у бактерій фрагмент ДНК очікуваного розміру – 840 п.н. (рис. 4). За умов ампліфікації ДНК, виділеної із заражених рослин помідорів, взятих із поля, нами виявлені ПЛР-продукти аналогічного розміру (840 п.н.), як і за ампліфікації ДНК бактерій колекційного штаму *X. vesicatoria* 9098. Таким чином встановлено наявність інфекції у заражених рослинах помідорів із поля і визначено їхню ідентичність бактеріям *X. vesicatoria*.

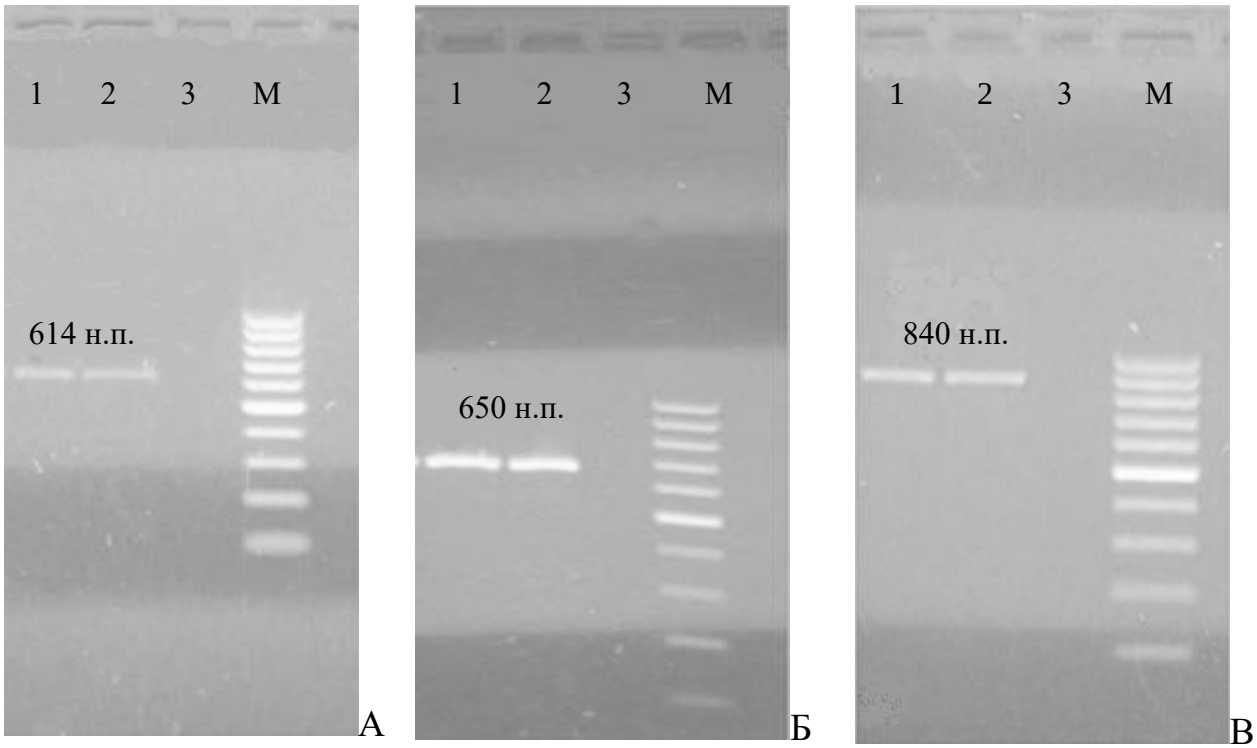


Рис. 4. Електрофореграми продуктів ПЛР із використання праймерів CMM5 і CMM6 (А: 1 – ДНК ізолятів групи 3); P1 й P2 (Б: 1 – ДНК ізолятів групи 2); RST2 та RST3 (В: 1 – ДНК ізолятів групи 1); 2 – ДНК із уражених рослинних тканин, 3 – негативний контроль, М – маркер

Для ідентифікації збудника бактеріального раку помідорів використовують гомологічні праймери до гена *pat-1*, що кодує білок із 280 амінокислотних залишків, який обов’язковий для розвитку *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* в рослинах помідора. Згідно наших даних, за ампліфікації ДНК бактерій *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* штамів P8, P12 і P73 із праймерами CMM5 і

CMM6 одержано ПЛР-продукти розміром 614 н.п., що узгоджується з результатами інших авторів [15]. За ПЛР аналізу ДНК з уражених судин стебла рослин помідорів нами виявлено утворення ПЛР-продуктів розміром 614 н.п. Отримані результати свідчать, що ізоляти третьої групи за морфологічними, фізіолого-біохімічними і молекулярними властивостями ідентичні виду *C. michiganensis* subsp. *michiganensis.* Отже, праймери CMM5 і CMM6 можуть бути використані для достовірного виявлення збудника батеріального раку *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* та створення на їх основі діагностичної тест-системи.

Для ідентифікації широкої групи патоварів виду *Pseudomonas syringae* в процесі розробки специфічних праймерів орієнтуються на ділянки генома, що відповідають за синтез токсинів, які застовують як класифікаційну одиницю різних патоварів. Бактеріальні фітотоксини утворюються за умов контакту патогена з рослиною і обумовлюють його поширення в рослинних тканинах. Для ідентифікації бактерій виду *P. syringae* pv. *tomato* використовують праймери, які комплементарні до *cfl*-гена, який відповідає за синтез коронатину [13]. В результаті ампліфікації ДНК бактерій колекційного штаму *P. syringae* pv. *tomato* Dappg-4 213 і виділеного штаму *P. syringae* pv. *tomato* І3-28 із праймерами Р1 й Р2 відбувалось утворення ПЛР-продуктів розміром 650 н.п. Виділена ДНК з уражених рослин помідорів за умов ампліфікації із специфічними праймерами Р1 і Р2 розміром 17 н.п. відзначалася ПЛР-продуктами очікуваного розміру 650 н.п. Отже, вважаємо за доцільне використання LOPAT тесту і ПЛР із комбінацією праймерів Р1 і Р2 для ідентифікації бактерій виду *P. syringae* pv. *tomato*, що дозволяє її проводити у випадку виділення ДНК із чистої культури і з рослинної тканини.

Таким чином, ПЛР є найточнішим і найчутливішим діагностичним методом, який дозволяє з високою точністю виявляти на ранніх стадіях бактеріальні захворювання, в тому числі й бактерій *X. vesicatoria*, що зумовлюють чорну бактеріальну плямистість, *P. syringae* pv. *tomato* – бактеріальну крапчастість, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* – бактеріальний рак помідорів.

Висновки. Хвороби рослин помідорів у господарствах Дніпропетровської, Запорізької і Херсонської областей України мають бактеріальне походження, які спричинені збудниками бактеріального раку *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, чорної бактеріальної плямистості *Xanthomonas vesicatoria* та крапчастості *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Для ідентифікації збудників *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Xanthomonas vesicatoria* та *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* в уражених тканинах рослин помідорів на різних етапах онтогенезу нами запропоновано застосовувати ПЛР-аналіз із використанням праймерів *CMM5 і CMM6, RST2 й RST3 і P1 та P2.*

Список літератури

1. Аветисян Ю. Ф. Возбудители бактериальных болезней помідора в хозяйствах Днепропетровской области / Ю. Ф. Аветисян, Ю. В. Коломиец // Глобализация науки: проблемы и перспективы: сборник статей. – Уфа : РИЦ БашГУ, 2014. – Т. 3. – С. 186-189.
2. Матвеева Е. В. Черная бактериальная пятнистость помідора / Е. В. Матвеева // Овощеводство и тепличное хозяйство. – 2007. – № 6. – С. 23-25.
3. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and *Xanthomonas* spp. on tomato // EPPO Bulletin. – 2011. – Vol. 41. – P. 269-271.
4. Ахатов А. К. Мир помідора глазами фитопатолога / А. К. Ахатов. – М. : КМК, 2010. – 288 с.
5. Прогноз фітосанітарного стану агроценозів України та рекомендації щодо захисту рослин у 2015 р.: Науково-виробниче видання / За редакцією: В. М. Стефківського, О. М. Орлової / К.: Управління захисту рослин Департаменту фітосанітарної безпеки Державної ветеринарної та фітосанітарної служби України, 2015. – 240 с.
6. Гвоздяк Р. І. Етіологія масового захворювання помідорів у господарствах України / Р. І. Гвоздяк, С. М. Мороз, Л. М. Яковлева, Є. П. Черненко // Мікробіол. журн. – 2009. – 71, № 5. – С. 33-40.
7. Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби рослин: Монографія / Р. І. Гвоздяк, Л. А. Пасічник, Л. М. Яковлева [та ін.]; За ред. В. П. Патики – К.: ТОВ «НВП «Інтерсервіс», 2011. – 444 с.
8. Быкова Г. А. Особенности защиты овощных культур в теплицах от бактериозов / Г. А. Быкова, Е. Б. Белых // Защита и карантин растений. – 2011. – № 3. – С. 32-35.
9. Диагностика зараженности семян помідора возбудителем бактериального рака методом ПЦР / А. Н. Карлов, Ф. С. Джалилов, Г. И. Карлов, К. П. Корнев [та ін.] // Известия ТСХА. – 2007. – Вип.1. – С. 21-25.
10. Характеристика бактерий рода *Xanthomonas*, выделенных из растений помідора на территории России / К. П. Корнев, В. А. Политыко,

Е. И. Кырова, С. В. Виноградова [и др.] // Защита картофеля. – 2014. – № 2. – С. 66-71.

11. Характеристика бактерий *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, выделенных из растений помідора на территории России // К. П. Корнев, В. А. Политыко, Е. И. Кырова, С. В. Виноградова [и др.] // Защита картофеля. – 2014. – № 2. – С. 71-78.

12. Діагностика фітопатогенних бактерій: Методичні рекомендації. / В. П. Патика, Л. А. Пасічник, Л. А. Данкевич, С. М. Мороз, Л. М. Буценко [та ін.] За ред. В. П. Патики. – Київ, 2014. – 76 с.

13. Ozdemir Z. Development of a multiplex PCR assay for the simultaneous Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* using pure cultures / Z. Ozdemir // Journal of Plant Pathology. – 2009. – № 91. – P.495-497.

14. Genomic approaches in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* allow fishing for virulence genes. / D. Büttner, L. Noël, F. Thieme [et. el.] // J. Biotechnol. – 2003. – № 106. – P. 203-214.

15. Аветисян Ю. Ф. Молекулярна діагностика бактеріальних хвороб рослин помідорів (*Lycopersicon esculentum* Mill.) / Ю. Ф. Аветисян, Ю. В. Коломієць, І. П. Григорюк // Продовольча індустрія в АПК. – 2014. – № 3. – С. 31-35.

References

1. Avetisyan, Yu. F. & Kolomiets, Yu. V. (2014) Vozbuditeli bakterial'nykh bolezney tomata v khozyaystvakh Dnepropetrovskoy oblasti [The causative agents of bacterial diseases of tomato farms in Dnipropetrovsk region]. *Globalizatsiya nauki: problemy i perspektivy: sbornik statey* [Science Globalization: Challenges and Prospects: a collection of articles] *3*, 186–189. [in Russian]

2. Matveeva, E. V. (2007) Chernaya bakterial'naya pyatnistost' tomata [Bacterial black spotting of tomato] *Ovoshchevodstvo i teplichnoe khozyaystvo* [Vegetables and greenhouses] *6*, 23–25. [in Russian]

3. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and *Xanthomonas* spp. on tomato (2011) EPPO Bulletin. Vol. 41, P. 269–271. [in English]

4. Akhatov, A. K. (2010) Mir tomata glazami fitopatologa [The world of a tomatoes plant through the eyes phypathologist] Moskva: KMK [in Russian]

5. Stefkivskoho, V. M. & Orlovoi, O. M. (Eds) (2015) Prohnoz fitosanitarnoho stanu ahrotsenoziv Ukrainy ta rekomendatsii shchodo zakhystu roslyn u 2015 r. [Forecast of phytosanitary state of agrocenoses in Ukraine and recommendations for the protection of plants in 2015] Kiev [in Ukrainian]

6. Hvozdiak, R. I., Moroz, S. M., Yakovleva, L. M. & Chernenko, Ye. P. (2009) Etiolohiia masovoho zakhvoriuvannia tomativ u hospodarstvakh Ukrainy [Etiology of mass disease of tomatoes at the farms of Ukraine] *Mikrobiolohichnyi zhurnal* [Microbiological Journal] *71 (5)*, 33–40. [in Ukrainian]

7. Patyka, V. P. (Ed) (2011) Fitopatohenni bakterii. Bakterialni khvoroby Roslyn [Phytopathogenic bacteria. Bacterial diseases of plants] Kiev: OOO "NPP Interservice" [in Ukrainian]

8. Bykova, G. A. & Belykh, E. B. (2011) Osobennosti zashchity ovoshchnykh kul'tur v teplitsakh ot bakteriozov [Specificity of vegetable crops protection from bacterial blight in greenhouses] *Zashchita i karantin rasteniy* [Plant protection and quarantine] *3*, 32 – 35. [in Russian]

9. Dzhalilov, F. S., Karlov, G. I., Kornev, K. P. … Karlov, A. N. (2007) Diagnostika zarazhennosti semyan tomata vozbuditelem bakterial'nogo raka metodom PTsR [Diagnosis of infection of seeds of tomato bacterial canker pathogen PCR] *Izvestiya TSKhA* [Izvestia of Timiryazev Agricultural Academy] *1*, 21 – 25. [in Russian]

10. Kornev, K. P., Polityko, V. A., Kyrova, E. I., Ignatov, A. N. (2014) Kharakteristika bakteriy roda Xanthomonas, vydelennykh iz rasteniy tomata na territorii Rossii [Bacteria of the genus Xanthomonas found on tomato plants in Russia] *Zashchita kartofelya* [Potato protection] *2*, 66 – 71. [in Russian]

11. Kornev, K. P., Polityko, V. A., Kyrova, E. I., Ignatov, A. N. (2014) Kharakteristika bakteriy Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis, vydelennykh iz rasteniy tomata na territorii Rossii [Characteristics of bacteria *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* extracted from plants tomato in Russia] *Zashchita kartofelya* [Potato protection] *2*, 71 – 78. [in Russian]

12. Patyka V. P. (Ed) (2014) Diahnostyka fitopatohennykh bakterii: Metodychni rekomendatsii [Diagnosis of pathogenic bacteria: Methodical recommendations] Kiev [in Ukrainian]

13. Ozdemir Z. (2009) Development of a multiplex PCR assay for the simultaneous Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* and *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* using pure cultures. Journal of Plant Pathology. № 91, P. 495–497. [in English]

14. Büttner, D., Noël, L. & Thieme F. (2003) Genomic approaches in *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* allow fishing for virulence genes. J. Biotechnol. № 106, P. 203–214. [in English]

15. Avetysian, Yu. F., Kolomiiets, Yu. V. & Hryhoriuk, I. P. (2014) Molekuliarna diahnostyka bakterialnykh khvorob roslyn tomativ (Lycopersicon esculentum Mill.) [Molecular diagnostics of bacterial diseases of tomato plants (Lycopersicon esculentum Mill.)] *Prodovolcha industriia v APK* [Food industry in the AIC] *3*, 31–35. [in Ukrainian]

ДИАГНОСТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ ТОМАТА В УСЛОВИЯХ ОТКРЫТОГО И ЗАКРЫТОГО ГРУНТА УКРАИНЫ

Ю. В. Коломиец, И. А. Григорюк, Л. Н. Буценко

Аннотация. *Основной причиной заболеваний сортов растений томатов в открытом и закрытом грунте Украины является наличие возбудителей бактериального рака Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis, черной бактериальной пятнистости Xanthomonas vesicatoria и бактериальной крапчатости Pseudomonas syringae pv. tomato. Характерные симптомы заболевания – увядание, почернение судинноволокнистих пучков, черная пятнистость листьев и плодов, глубокие язвы на плодоножках и отмирание*

растений. Представлены морфолого-культуральные и физиолого-биохимические свойства выделенных штаммов возбудителей бактериальных болезней томата. Для диагностики возбудителей черной бактериальной пятнистости, бактериальной крапчатости и бактериального рака рекомендовано применение праймеров RST2 и RST3, P1 и P2,CMM5 и CMM6.

Ключевые слова: *томат, возбудители бактериальных болезней, идентификация, физиолого-биохимические свойства, диагностика*

DIAGNOSTICS OF BACTERIAL DISEASES OF TOMATOES PLANT IN TERMS OF OPEN AND COVERED GROWING OF UKRAINE

J. V. Kolomiets, I. A. Grygoryuk, L. N. Butsenko

Abstract. *It was established that the main causes of mass diseases of tomato in covered and open ground in Ukraine are agents of bacterial cancer, bacterial black spotting and bacterial speck of tomato plants. Typical symptoms are wilting and die-off of young plants, blackening of fiber vascular bundles, black spotting of leaves and fruits, and fruit stem rot. It was studied morphological and cultural, as well as physiological and biochemical properties of the selected strains of the agents of tomatoe bacterial diseases. They are recommended primers RST2 and RST3, P1 and P2,CMM5 and CMM6, to diagnostics of the agents of bacterial black spotting Xanthomonas vesicatoria, bacterial speck Pseudomonas syringae pv. tomato and bacterial cancer Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis.*

Key words: *tomato, agents of bacterial disease, identification, physiological and biochemical properties, diagnostics*