

ПОТЕНЦІЙНО НЕБЕЗПЕЧНІ ЗБУДНИКИ БАКТЕРІАЛЬНИХ ХВОРОБ КАРТОПЛІ В УКРАЇНІ

Ю.В. КОЛОМІЄЦЬ,

д.с.-г.наук, професор кафедри екобіотехнології та біорізноманіття

<http://orcid.org/0000-0002-1919-6336>

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: julyja12345@gmail.com

Л.М. БУЦЕНКО,

професор кафедри біотехнології і мікробіології

<http://orcid.org/0000-0002-3575-4289>

Національний університет харчових технологій

Анотація. Подано огляд бактеріальних збудників м'яких (мокрих) гнилей картоплі, проаналізовано епідеміологічні та етіологічні аспекти спричинених ними хвороб. Під час підготовки статті використано загальнонаукові методи: узагальнення, порівняння, системний аналіз. Матеріалом для аналітичного дослідження слугували дані Європейської та Середземноморської організацій захисту рослин (ЕОЗР), а також дані фітосанітарних служб країн ЄС і України, наукова література. Торгівля рослинними матеріалами, включаючи насіннєві бульби картоплі та декоративні рослини, значною мірою відповідає за широке розповсюдження збудників. Місцево збудники також поширюються через залишки рослин, ґрунт, водні шляхи, аерозолі, альтернативних хазяїв та/або сільськогосподарську техніку. Основними збудниками бактеріальних мокрих гнилей картоплі є грамнегативні бактерії родів *Pectobacterium* й *Dickeya* та карантинні фітопатогени родів *Clavibacter* і *Ralstonia*. Основними методами виявлення та ідентифікації в безсимптомних бульбах картоплі у промислових масштабах є: фітопатологічний (візуальне обстеження насаджень та реєстрація появи симптомів м'яких гнилей), мікробіологічний (культурально-морфологічний і біохімічний метод, використання тест-систем для пришивидшеної ідентифікації мікроорганізмів), імуноферментний (ферментний імуносорбентний аналіз), молекулярно-генетичний (ПЛР із специфічними праймерами, BIOLOG, ДНК-відбитків та секвенування нуклеотидів). На сьогоднішній день не існує абсолютно ефективних пестицидів для контролю всіх збудників, отже, заходи захисту від хвороб й надалі покладатимуться насамперед на уникнення інфікування під час вирощування рослин, а особливо, під час виробництва здорового сертифікованого насіння. Щодо такої культури як картопля, це в першу чергу базується на отриманні вільних від бактерій мінібульб, застосуванні строгих схем сертифікації насіння й суворих фітосанітарних обмежень. Знання джерел патогенів і шляхів

інфікування повинно бути підґрунтям застосування фітосанітарних заходів, особливо під час збору врожаю та після збору врожаю. Особливої уваги потребує контроль карантинних фітопатогенів. Збудники м'яких гнилей є основною причиною обмеження виробництва картоплі в багатьох регіонах світу, зокрема *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum* та *R. solanacearum* є карантинними об'єктами списку А-2 Європейської та середземноморської організації з карантину і захисту рослин. У разі потрапляння в нашу країну *R. solanacearum* мають високу ймовірність до акліматизації і розповсюдження.

Ключові слова: *Solanum tuberosum* L., мокрі (м'які) гнилі, фітопатогенні бактерії, контроль збудників, карантин рослин.

Вступ.

Картопля (*Solanum tuberosum* L.) є однією з найважливіших культур із погляду місцевого споживання та експорту. Вона стабільно займає четверте місце у світі серед найважливіших продовольчих культур після пшениці, кукурудзи та рису (Birch et al., 2012). Картопля є продуктом харчування, сировиною для переробної промисловості та високоякісним кормом для худоби. Бульби її багаті на різні поживні речовини, зокрема: крохмаль, білок, клітковину, зольні елементи, вітаміни й каротиноїди. Білок бульб картоплі відзначається високою біологічною цінністю, зважаючи на те, що включає незамінні амінокислоти, зокрема, валін, лізин та інші. Маючи такий біохімічний склад, ця культура є також добрим поживним субстратом для багатьох шкідливих мікроорганізмів грибного і бактеріального походження. Вегетативне розмноження картоплі забезпечує фітопатогенам можливість існування в активному стані впродовж тривалого часу в період вегетації у рослинах і бульбах, а у період зберігання – у бульбах (Timko, 2017).

Серед усіх бактеріальних хвороб найбільшу шкоду картоплярству завдають мокрі (м'які) гнилі. Водночас

шкідливість гнилей є значною як під час вирощування картоплі, так і її зберігання. Ця тенденція може посилюватися за використання не сертифікованого насіннєвого матеріалу, а також вирощування сортів, які чутливі до бактеріальних фітопатогенів під час вегетації. Основні збудники бактеріальних гнилей картоплі – грамнегативні бактерії родів *Pectobacterium* та *Dickeya*. Значної шкоди завдають також збудники кільцевої гнилі картоплі грампозитивні бактерії *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum*. Особливої уваги заслуговує збудник бурої гнилі картоплі *Ralstonia solanacearum*. Останні є карантинними патогенами в Європейському Союзі (Список А2 Європейської та середземноморської організації з карантину та захисту рослин (ЄОКЗР)) і підлягають міжнародному фітосанітарному контролю.

Pectobacterium і *Dickeya* є патогенними для рослин бактеріями, що належать до родини Enterobacteriaceae. Ці патогени здатні інфікувати широке коло господарів й спричиняють в'янення, гниль і «чорну ніжку» у сільськогосподарських культур у всьому світі (Charkowski et al., 2012, Oztruk et al., 2018). Одним із чинників, що визначає патогенність цих бактерій, є їхня здатність до утворення фер-

ментів, що руйнують клітинну стінку рослин, включно з пектатліазою (Pel), полігалактурозою (Peh), протеазою (Prt) і целюлазою (Cel).

Збудник бурої гнилі картоплі *Ralstonia solanacearum* уражає понад двісті видів рослин з понад п'ятдесяти родин (Aslam et al., 2017, Uwamahoro et al., 2020). Він є найбільш руйнівним бактеріальним збудником через його інвазивність, надзвичайно широкий спектр хазяїв, стійкість і широке топографічне поширення (Wei et al., 2018). *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicum* належить до актинобактерій, природним хазяїном є лише картопля. Патоген спричинює ранню загибель рослин, загнивання бульб і значне скорочення врожаю. Особливу небезпеку створює поширення цих фітопатогенів внаслідок розповсюдження латентно інфікованих бульб насінневої картоплі, а також інфікованої води у випадку *R. solanacearum* і *Dickeya* (Potrykus et al., 2016).

Поява різноманітних рас і штамів збудників з відмінною вірулентністю в різних умовах навколишнього середовища становить серйозну небезпеку для європейського та середземноморського виробництва пасльонових. Тому для країн-експортерів насінневої картоплі важливим чинником є відсутність даних збудників.

Зважаючи на розширення площ вирощування картоплі в Україні на тлі зростання обсягів споживання картоплі у агропромисловій галузі нашої країни та у приватному секторі, вивчення бактеріальних хвороб цієї культури потребує особливої уваги. Зокрема, це стосується збудників мокрих гнилей, які є небезпечними для інших видів сільськогосподарських рослин.

Метою роботи був аналіз поширення та шкідливості збудників бактеріальних гнилей для картоплярства України, оцінка можливих шляхів потрапляння карантинних збудників до нашої країни та їхньої здатності до інтродукції в Україні, визначення методів ідентифікації та контролю збудників.

Результати дослідження та їх обговорення.

Поширення, симптоми та етіологія мокрих (м'яких) гнилей картоплі. Поняття мокрі (м'які) гнилі картоплі об'єднує цілу групу схожих за симптомами уражень рослин та бульб картоплі як під час вегетації, так і під час зберігання врожаю. Основною ознакою такого ураження є мацерація рослинних тканин з утворенням мокрої слизоподібної маси, що часто має специфічний неприємний запах. Утворена маса містить як залишки рослинних тканин, так і слизову масу фітопатогена, а, отже, може слугувати інокулюмом для подальшого поширення інфекційної хвороби. Розвиток м'яких гнилей пов'язаний із вологістю середовища. Тому частіше ураження спостерігають на початку вегетаційного періоду за вологої, теплої погоди на початку літа, та під час зберігання у приміщеннях із підвищеною вологістю. Шкідливість мокрих гнилей на картоплі дуже висока. За ураження на початку вегетації може відбуватися масова загибель рослин. Ураження бульб, які є чудовим джерелом поживних речовин для патогенів, може призводити до втрати вже вирощеного урожаю. Отже, контроль збудників мокрих гнилей є важливим етапом отримання та збереження урожаю бульб картоплі.

Ефективний контроль поширення мокрих гнилей картоплі вимагає знання про їхніх збудників. Не зважаючи на спільність симптомів мокрі гнилі картоплі можуть мати різну етіологію. Наймасовішою причиною гниття картоплі як під час вирощування, так і на етапі зберігання є бактеріальне ураження. Бактеріальні збудники, що спричиняють гниття картоплі, належать до різних родів бактерій і неоднаково поширені у регіонах вирощування цієї культури. На території України тривалий час домінуючим збудником бактеріальних гнилей картоплі були представники роду *Pectobacterium*: *P. atrosepticum* та *P. Carotovorum subsp. carotovorum*. В останні роки спостерігається тенденція до зміни спектру бактеріальних патогенів, яка, насамперед, проявляється появою тих збудників, які були поширені у регіонах із більш теплим кліматом. Поява нових збудників зумовлена розвитком міжнародної торгівлі і, насамперед, обміном садивним матеріалом. Очевидно, що внесок у зміну спектру патогенів робить і зміна кліматичних умов, зокрема, підвищення температури, яке спостерігається сьогодні. Аналіз спектру поширених патогенів, що спричиняють гниття картоплі, дасть можливість розробити рекомендації щодо їхньої ідентифікації та, зрештою, важливе для розроблення методів контролю фітопатогенів.

Відомо, що низка видів із родів *Pectobacterium* і *Dickeya* викликають чорну ніжку, м'яку гниль бульб, а також в'янення та гниль стебла картоплі. До них належать *D. dadantii*, *D. dianthicola*, *D. solani*, *P. atrosepticum*, *P. wasabiae* та *P. carotovorum subsp. carotovorum* і *P. carotovorum subsp. brasiliensis* (Curland et al., 2021). У всьому світі *P. atrosepticum* та *P.*

carotovorum subsp. carotovorum є основною причиною чорної ніжки та м'якої гнилі картоплі й суттєво обмежують виробництво картоплі. *P. carotovorum subsp. carotovorum* має широкий діапазон хазяїв і поширений у всьому світі на відміну від *P. atrosepticum*, який, в основному, обмежений картоплею і трапляється лише в регіонах з помірним кліматом (Hashemi Tameh, 2020).

Фітопатогени роду *Dickeya*: *D. dianthicola* та *D. solani*, переважають у Північній Європі. Найдавнішим повідомленням про *Dickeya spp.* (*E. chrysanthemi*), що спричиняє хворобу картоплі, є інформація 1970-х років (Toth et al., 2011). До 2005 року всі європейські ізоляти збудників бактеріальних гнилей картоплі, ймовірно, були *D. dianthicola* (Motyka-Pomagruk et al., 2020). Останнім часом у кількох дослідженнях європейських штамів фітопатогенів картоплі було виявлено новий патоген, який згодом назвали *D. solani*, як основний вид *Dickeya*, що вражає картоплю в регіоні (Potrykus et al., 2016; Golanowska et al., 2017, 2018).

Чорна ніжка, спричинена *Pectobacterium* і *Dickeya*, характеризується утворенням слизової, мокрої, чорної гнилі, що поширюється від гниючої материнської бульби вгору по стеблах, особливо у вологих умовах (Czajkowski et al., 2010, 2017, Dees et al., 2017). У сухих умовах симптоми, як правило, призводять до затримки росту, пожовтіння, в'янення та висихання стебел і листя. У теплих вологих умовах симптоми чорної ніжки та м'якої гнилі у картоплі схожі незалежно від того, спричинені вони *Pectobacterium* або *Dickeya*, що робить майже неможливим ідентифікувати збудника лише візуальною оцінкою.

В Україні як збудники чорної ніжки та мокрої гнилі картоплі ідентифікують патогени роду *Pectobacterium* (Polozhenets et al., 2019). На нашу думку, відсутність повідомлень про збудники роду *Dickeya* в нашій країні пов'язана із недосконалою системою ідентифікації та відсутністю належного контролю. Адже саме ці патогени на сьогодні переважають в сусідніх країнах зі схожими кліматичними умовами.

Особливе занепокоєння у виробників картоплі спричиняє збудник кільцевої гнилі картоплі *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicum*. Цей фітопатоген поширений в усіх регіонах вирощування картоплі в Україні та включений у список А3 (регульовані некарантинні організми) Переліку регульованих шкідливих організмів (№ 879/33850 від 08 серпня 2019 р.). Водночас збудник обмежено поширений на територіях країн, до яких експортує картоплю Україна. Наприклад, *C. michiganensis subsp. sepedonicum* включений в список А2 Європейської та середземноморської організація захисту та карантину рослин і у разі експортування картоплі вимагається підтвердження відсутності цього збудника.

Симптоми кільцевої гнилі часто виявляються на рослинах картоплі під час вегетаційного періоду в полі, й інфекція може залишатися латентною впродовж тривалого періоду. На ранніх стадіях ураження на рослинах картоплі міжжилкові проміжки листя стають від світло-зеленого або блідо-жовтого кольору. Потім листя починає в'янути і злегка згортається на краях. За прогресування хвороби листя стає некротичним, починаючи з країв. Листя та бульби часто зменшуються в розмірі, а рослини відстають у

рості. За сприятливих умов довкілля, тобто прохолодної та вологої погоди, спостерігається загальне в'янення і загибель рослин. Симптоми кільцевої гнилі на бульбах зазвичай спостерігаються після збору врожаю та під час зберігання (Gryń et al., 2020). Тяжкість симптомів коливається від відсутності виявлених симптомів до повного руйнування судинного кільця, що проходить по всій бульбі. Що стосується зовнішньої сторони інфікованих бульб, можуть бути помітні поверхневі тріщини й темні плями безпосередньо під перидермою. На відміну від мацерації, спричиненої м'якими гнилями картоплі, бактеріальна кільцева гниль зазвичай не має запаху. Симптоми в бульбах починаються як легка склоподібність або прозорість тканини без розм'якшення навколо судинної системи. Спостерігається легка зміна кольору судинного кільця до жовтуватого забарвлення. Якщо бульбу обережно стискають, із судин виходять стовпчики бактеріальної маси (EFSA et al., 2019). Молочний ексудат іноді може видавлюватися із зів'ялих стебел поблизу місця прикріплення до бульби, а судинні тканини цих стебел можуть мати коричневе забарвлення. Більша кількість бульб із симптомами захворювання спостерігається після періоду зберігання. У насінневих бульбах, які зберігалися протягом кількох місяців – залежно від умов зберігання – симптоми кільцевої гнилі включають зміну кольору судинної тканини, яка стає кремово-жовтою, під час розрізання та стискання бульб виділяються молочні краплі бактеріального слизу. У разі сильного ураження частини кори можуть розділятися, а поверхня бульби стає червонувато-коричневою (Osdaghi et al., 2022).

Бактеріальне в'янення рослин кар-

топлі та бура гниль на бульбах картоплі, спричинені *R. solanacearum*, є однією з найбільш небезпечних хвороб виробництва картоплі в Європі, Азії, Африці, Центральній і Південній Америці (Charkowski et al., 2020). Цей збудник внесено до Списку А2 ЄОКЗР та карантинні списки багатьох країн світу, в тому числі, України. В останні роки регулярно з'являються повідомлення підрозділів Державної служби України з питань безпечності харчових продуктів та захисту споживачів про виявлення в деяких господарствах збудника бурої гнилі *R. solanacearum* (Review, 2022). Водночас, на сьогодні збудник не має масового поширення в Україні, а, зважаючи на його велику шкідливість, запобігання його інтродукції і поширення є важливим завданням.

R. solanacearum розділена на п'ять рас відповідно до діапазону хазяїна та на п'ять біоварів згідно з Mutimawurugo et al., 2019, на основі здатності окислювати тригексозні цукрові спирти (дульцит, маніт і сорбіт) і три дисахариди (целобіозу, лактозу та мальтозу). Відповідно, біовар (1) не може споживати ці цукри, тоді як біовар (2) може використовувати лише дисахариди, біовар (3) може розкласти їх усі, а біовар (4) окислює лише гексозні спирти, тоді як біовар (5) може споживати всі цукру, за винятком дульциту та сорбіту, як зазначено Sagar et al. (2014). Ці бактерії вважаються ґрунтовими, тому вони зазвичай атакують рослини через коріння та колонізують судини ксилеми (García et al., 2019). Оскільки судинні пучки у хворих рослин заповнені бактеріями, вони перешкоджають транспортуванню води та поживних речовин, і внаслідок чого з'являються симптоми, якими є пожовтіння листя,

почервоніння судинних пучків, некроз і, зрештою, повне в'янення заражених рослин, а потім – фізіологічні зміни в хворих рослинах, такі як збільшення частоти дихання та зменшення транспірації і фотосинтезу (Karim and Hossain, 2018).

Захворювання на кільцеву та буру гнилі зареєстровані в Регіоні ЄОКЗР: Болгарія, Чехія, Естонія, Фінляндія, Німеччина, Греція, Латвія, Литва, Нідерланди, Норвегія (обмежено поширений), Україна (широко поширений), Румунія, Польща, Іспанія, Швеція (EPPO, 2022); Азія: Китай, Грузія, Японія, Тайвань, Непал, Північна Корея, Пакистан, Туреччина, Узбекистан; Північна Америка: Канада (Альберта, Британська Колумбія, Манітоба, Нью-Брансвік, Ньюфаундленд і Лабрадор, Нова-Скотія, Онтаріо, Острів Принца Едуарда, Квебек, Саскачеван), Мексика, США (Колорадо, Айдахо, Канзас, Мен, Нью-Йорк, Північна Дакота, Орегон, Вашингтон, Вісконсін) (CABI, EPPO, 1997). Окремі колишні спалахи були ліквідованими в Австрії, Бельгії, Кіпрі, Данії, Франції та Великобританії (Англія та Уельс).

Морфолого-культуральні та фізіолого-біохімічні властивості збудників гнилей картоплі. За даними Van der Wolf et al. (2014b), *D. Solani* є грамнегативними рухливими паличкоподібними бактеріями з пектинолітичною активністю, які можуть швидко руйнувати тканини картоплі. *D. solani* виробляють фосфатази і здатні виробляти індол і кислоти з α -метил-глюкозиду. Ріст відбувається за 37 °C, аргінін не розкладають в анаеробних умовах, кислота утворюють з D-арабінози, маніту, мелібіози та рафінози, але не з 5-кетоглюконату чи інуліну (табл. 1).

Бактерії *P. atrosepticum* грамнегативні, паличкоподібні, продукують ферменти, не флуоресціюють на середовищі Кінга В; позитивний тест на розрідження желатину, розщеплення пектину на напівселективному середовищі CVP-тест, каталазну та пектолітичну активність, ростуть на 5% NaCl, утворюють відновлюючі речовини з сахарози, кислотоутворення з лактози та α -метилглюкозиду; негативний тест щодо росту при 37 °С, кислотоутворення з сорбіту та мальтози, активності фосфатази, тестів на яєчний жовток (лецитин), чутливості до еритроміцину та пігментації на дріжджовому декстрозно-кальцій-карбонатному агаризованому середовищі (табл. 1)

R. solanacearum – грамнегативні бактерії з паличкоподібними клітинами завдовжки 0,5-1,5 мкм з одним полярним джгутиком. Позитивна реакція фарбування гранул полі- β -гідроксибутирату суданським чорним В або нільським синім відрізняє *R. solanacearum*

від багатьох інших (фітопатогенних) грамнегативних видів бактерій. Грамнегативні палички з полярним пучком джгутиків, часто утворюють нефлуоресцентний, але дифундуючий коричневий пігмент. Полігідроксибутират (PHB) накопичується як клітинний резерв і може бути виявлений за допомогою фарбування суданського чорного на багатих поживними речовинами середовищах або тесту Nile Blue, а також у зразках з інфікованих тканин (Anonymus, 2006). На загальних поживних середовищах вірулентні ізоляти *R. solanacearum* утворюють перламутрово-кремово-білі, плоскі, неправильної форми та рідкі колонії, часто з характерними завитками в центрі. Авірулентні форми *R. Solanacearum* утворюють невеликі, округлі, маслянисті колонії, кремово-білого кольору. На середовищах з тетразолію Кельмана та SMSA завитки криваво-червоного кольору. Авірулентні форми *R. Solanacearum*

1. Фізіологічні та біохімічні властивості найпоширеніших ентеробактерій м'якої гнилі картоплі

Тест	<i>P. atrosepticum</i>	<i>D. solani</i>
Розщеплення пектину на напівселективному середовищі CVP (24 год, при 28°C)	+	+
Ріст на поживному агарі при 37°C	-	+
Ріст в 5% NaCl	+	-
Чутливість до еритроміцину	-	+
Утворення відновлюючих речовин із сахарози	+	-
Виробництво індолу	-	+
Виробництво фосфатази	-	+
Утворення кислоти з лактози	+	+
Утворення кислоти з мальтози	+	-
Утворення кислоти з α -метилглюкозиду	+	-
Утворення кислоти з трегалози	+	-
Утворення кислоти з сорбіту	-	-
Утилізація малонату	-	+

утворюють невеликі, круглі, нерідкі маслянисті колонії, які повністю темно-червоні. *R. solanacearum* мають позитивну реакцію на оксидазну активність і негативну реакцію на аргінін-гидролазу, гідроліз крохмалю та розрідження желатину. Що стосується утилізації джерел вуглецю, то всі патогенні ізоляти здатні утилізувати глюкозу, лактозу, мальтозу та целлібозу (Khairy et al., 2021).

C. michiganensis subsp. *sepedonicum* – короткі, нерухомі, грампозитивні паличкоподібні бактерії. Збудник аеробний, але в анаеробних умовах може спостерігатися повільний ріст. Колонії кремові жовтуваті. Оптимальна температура росту 20-23°C. Клітини, пофарбовані за Грамом, можуть виглядати злегка булавоподібними та мати тенденцію до парного утворення L- або V-образного типу. Клітини зі свіжих ізолятів, вирощених на лабораторному середовищі, іноді досить плеоморфні з морфологією клітин, яка варіюється від великих кулястих форм до типових коротких, злегка булавоподібних паличок (Li et al., 2018; Bragard et al., 2019).

Ідентифікація збудників бактеріальних гнилей картоплі. Для надійного виявлення збудників мокрих (м'яких) гнилі в безсимптомних бульбах картоплі в промислових масштабах рекомендується застосування візуального, культурально-морфологічного і біохімічного методів (використовуючи, як API-системи чи подібні), ферментного імуносорбентного аналізу (ELISA), методи, що базуються на ПЛР (за порівняння із типовим штамом), BIOLOG (Biolog Inc., США), аналіз жирних кислот, ДНК-відбитків та секвенування нуклеотидів (EFSA et al., 2019).

Візуального огляду бульб або рослин картоплі в полі недостатньо для

виявлення інфекції і, тим більше, ідентифікації її збудника. Рослини можуть бути латентно інфіковані, і в разі появи симптомів можлива сплутаність з тими, які спричинені інфекцією комплексом видів збудників мокрих (м'яких) гнилі, а симптоми можуть маскуватися через природне старіння (van der Wolf et al., 2005). Для підтвердження зараження латентно інфікованих партій насіння (бульб) потрібна ізоляція збудника.

У Європі зразки картоплі на ураження *R. solanacearum* та *C. michiganensis* subsp. *sepedonicum* наразі перевіряють за допомогою мікроскопії непрямої імунофлуоресценції (IIF) відповідно до схваленого методу Європейської та середземноморської організації захисту рослин. Завдяки одночасному застосуванню IIF і флуоресцентної гібридизації *in situ* (FISH) поєднуються дві незалежні мішені для ідентифікації *R. solanacearum*, що забезпечує швидко (через 1 добу) точну ідентифікацію патогенного збудника (Pastrik et al., 2002).

Методи ампліфікації на основі ДНК зараз найбільш широко використовуються в сучасних лабораторіях для виявлення та диференціації видів *Pectobacterium* і *Dickeya*, *Ralstonia* і *Clavibacter*. Вони складаються з ампліфікації цільових специфічних послідовностей за допомогою аналізів ПЛР різних форматів, включно зі звичайною ПЛР, мультиплексною ПЛР, ПЛР у реальному часі з флуоресцентним виявленням амплікону (Taq-Man) (Puaprasert et al., 2018, Birhane et al., 2020).

ПЛР у реальному часі простий і зручний метод для високопродуктивного аналізу, адаптований до первинного скринінгу для сертифікації

2. Специфічні праймери для звичайної ПЛР

Цільовий фітопатоген	Ген мішень	Назва праймера	Послідовність праймера (5'-3')	Розмір амплікону (bp)
<i>Pectobacterium and Dickeya spp.</i>	16S rRNA	SR3FS R1cR	GGTGCAAGCGTTAATCGGAATG AGA CTC TAG CCT GTC AGT TTT	119
<i>Pectobacterium atrosepticum</i>	геном	ECA1f ECA2r	CGG CAT CAT AAA AAC ACG GCA CAC TTC ATC CAG CGA	690
<i>Dickeya solani</i>	пектатліаза	ADE1 ADE2	GATCAGAAAGCCGCGAGCCAGAT CTGTGGCCGATCAGGATGGTTTGG TCG TGC	420
<i>Ralstonia solanacearum</i>	ендонукле- аза	R.sol1 R.sol2	CCGACACCACGACCTGAA GCGGACGGATAGATGATGTTGC	331
<i>C. michiganensis subsp. sepedonicum</i>	плазмід pCS1	CMS-6 CMS-7	CGCTCTCCCTCACCAGACTC TCCCGTGCTGCCTGCGTTG	258

бульб, та не потребує етапу обробки після ПЛР (Maskay, 2004; Mumford et al. 2006).

Цикл розвитку бактеріальних збудників гнилей картоплі та джерела інфікування. Колонізація рослин-хазяїнів збудниками м'яких гнилей завдає серйозної шкоди фермерам, постачальникам і споживачам. Основне джерело інфікування – це заражене насіння картоплі, де бактерії можуть латентно залишатися на низькому рівні, доки умови довкілля не стануть сприятливими для експресії чинників вірулентності та екстенсивного розмноження бактерій. Збудники можуть заражати бульби через ґрунтову воду, коріння та судинну систему. Виживання збудника м'якої гнилі в ґрунті залежить від рН ґрунту, температури та вологості. Бактерії здатні виживати в ґрунті до 6 місяців навіть за відсутності рослинних рештків (Czajkowski et al., 2011). Збудники також можна знайти в поверхневій та зрошувальній воді (Czajkowski et al., 2011). Чутливість бульб до бактеріальних м'яких гнилей залежить від водного потенціалу бульби, проник-

ності мембран, міжклітинної концентрації відновлюючих цукрів, поліфенолоксидази, рівня кисню та інших чинників. Низька концентрація кисню підвищує сприйнятливість до м'яких гнилей бульб, що призводить до великої деградації тканин. Дослідження Marquez-Villavicencio et al. (2011) показали, що на м'яку гниль картоплі впливають такі фізіологічні характеристики, як розмір і зрілість бульб. Дрібні бульби були більш стійкими до м'якої гнилі, ніж великі. Зрілі бульби були більш стійкими завдяки краще розвиненій перидермі та наявності антибактеріальних речовин, а також меншому вмісту води.

Коли материнська бульба загниває, бактерії вивільняються в ґрунт. *Dickeya solani* не виживає в ґрунті, але може тривалий час виживати в поверхневих водах (Toth et al., 2011), бур'янах (Fikowicz-Krosko, Czajkowski, 2017) або зимуючий картоплі та поширюється комахами (Rossmann et al., 2018). Як і *Pectobacterium*, *Dickeya* поширюється головно під час збору врожаю, від заражених бульб до раніше незара-

3. Умови здійснення ПЛР із специфічними праймерами до збудників бактеріальних гнилей картоплі

Цільовий фітопатоген	Крок 1	Крок 2	Крок 3
<i>Pectobacterium</i> and <i>Dickeya</i> spp.	94°C 5 хв	40 циклів: 94°C 30 с, 68°C 45 с, 72°C 45 с	72°C 7 хв
<i>Pectobacterium atrosepticum</i>	94°C 5 хв	36 циклів: 94°C 30 с, 62°C 45 с, 72°C 45 с	72°C 7 хв
<i>Dickeya solani</i>	94°C 5 хв	25 циклів: 94°C 60 с, 72°C 2 хв	72°C 7 хв
<i>Ralstonia solanacearum</i>	95°C 5 хв	30 циклів: 94°C 30 с, 63°C 30 с, 72°C 1 хв	72°C 7 хв
<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicum</i>	95°C 5 хв	35 циклів: 95°C 1 хв, 59°C 30 с, 72°C 1 хв	72°C 7 хв

4. Праймери та зонди для ідентифікації збудників бактеріальних гнилей картоплі методом ПЛР у реальному часі (Taq-Man)

Цільовий фітопатоген	Назва праймера	Послідовність праймера та зонда (5'-3')
<i>Pectobacterium atrosepticum</i>	ECA-CSL-1F ECA-CSL-89R ECA-CSL-36T-P	CGGCATCATAAAAACACGCC CCTGTGTAATATCCGAAAGGTGG ACATTCAGGCTGATATCCCCCTGCC
<i>Dickeya solani</i>	SOLC-F SOLC-R SOLC-P	GCCTACACCATCAGGGCTAT ACACTACAGCGCGCATAAAC CCAGGCCGTGCTCGAAATCC
<i>Dickeya solani</i>	fusA-F fusA-R fusA-P	GGTGTGCTTGACCTGGTGAAA ATAGGTGAAGGTCACACCCTCATC TGAAAGCCATCAACTGGAATGATTC
<i>Ralstonia solanacearum</i>	R.sol1 R.sol2 Rs-pro	CCGACACCACGACCCTGAA GCGGACGGATAGATGTAGTTGC ACC TGG CAT ACC TTG GCG ACA CC
<i>C. michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicum</i>	CelA-F CelA-R Cela	TCTCTCAGTCATTGTAAGATGAT ATTCGACCGCTCTCAAA TTCGGGCTTCAGGAGTGCGTGT

жених. Бактерії в основному розміщуються на чечевичках бульби, але також можуть бути присутніми в рубці столона бульби. Потрапляючи в стебла, бактерії не обов'язково спричиняють гниль стебла (чорну ніжку) і можуть виживати в прихованій формі. Температура вище 30 °C упродовж вегетаційного періоду є особливо сприятливою для розвитку хвороби. Спільне зараження *Pectobacterium* і *Dickeya*, очевидно, призводить до

розвитку захворювання частіше, ніж коли присутня лише *Dickeya*. Важливим екологічним чинником розвитку чорної ніжки є рівень води в ґрунті. Наявність водяної плівки на поверхні бульби викликає розвиток анаеробних умов у материнських бульбах, тим самим сприяючи розмноженню бактерій та ініціації гниття.

Оскільки *Pectobacterium* поширені в доквіллі, то можуть бути виявлені в ґрунті, воді, бур'янах та комах. Не-

можливо вирощувати картоплю, вільну від цього збудника (Charkowski, 2015). Бактерії цього роду можуть поширюватися комахами, але важливість комах порівняно з іншими шляхами поширення залишається невідомою. *Pectobacterium* поширюються переважно під час збору врожаю. У бульбах бактерії знаходяться в чечевичках і всередині лубка.

Незважаючи на те, що *R. solanacearum* часто описують як ґрунтові патогени, виживання зазвичай короткочасне за низької температури в ґрунті, але є тривалим на альтернативних диких рослинах-хазяїнах. Захворювання зазвичай найважче протікає за температури 24–35 °С. Висока вологість ґрунту, періоди вологої погоди або сезони дощів пов'язані з високою захворюваністю. Проникнення в рослини зазвичай відбувається через пошкодження кореня, звідки бактерії рухаються внаслідок колонізації ксилеми, де вони прилипають до стінок судин через полярне тяжіння або проникають в отвори. Основною причиною в'янення вважається блокування судин бактеріальним позаклітинним полісахаридом (EPS) (Milling et al., 2011).

C. michiganensis subsp. Sepe-donicum переважно передається насінням (бульбами), але також може проникати в рослини-хазяїни через рани (наприклад, розрізаючи бульби картоплі під час їхньої посадки) і гідатооди (Robert, 2013), головню через контакт із зараженими бульбами або через заражене обладнання, що використовується для виробництва картоплі (ножі, саджалки, комбайни та контейнери для зберігання). Бактерії колонізують судини ксилеми рослин і з бульби через столони поширюється на стебла, черешки, коріння та бульби, що розвиваються. Після безсимп-

томної колонізації рослин, яка може тривати майже весь період росту картоплі, симптоми можуть розвинути в надземних частинах рослини. Оптимальна температура росту *C. michiganensis subsp. sepedonicum* досить низька, тобто 20–23 °С.

C. michiganensis subsp. sepedonicum може зберігатися в полі в незібраних бульбах картоплі, а також в заражених рослинних залишках картоплі (De Boer et al., 2017). Шкідник погано виживає за наявності мікробної конкуренції поза рослиною-хазяїном і може зберігатися в сухих і холодних умовах. Бактерії особливо добре виживають, якщо їх висушити в мазках гнилої тканини бульби на обладнанні, машинах, мішках для картоплі та контейнерах для зберігання. Бактерії залишалися інфекційно здатними у висушеному стані принаймні 18 місяців за температури від 5° до -40 °С (Charkowski et al., 2020).

Методи контролю бактеріальних збудників гнилей картоплі. На сьогодні зупинка поширення збудників мокрих (м'яких) гнилей є проблемою, оскільки немає доступних ефективних пестицидів і немає стійких комерційних сортів, тоді як використання резистентних культур, отриманих за допомогою біотехнології, хоча й є перспективним, але не є широко прийнятим. Крім того, збудники мають широкий діапазон хазяїнів і легко поширюються через гнилий рослинний матеріал.

Контроль, в основному, базується на сертифікації насіння для обмеження ризиків використання інфікованого посадкового матеріалу, а також на дезінфекції і методах вирощування, які зменшують перехресне зараження всередині та між партіями насіння. Сертифікація перебуває під офіційним

контролем уповноваженого уряду країни-виробника, і багато країн мають власні національні стандарти, які можуть бути суворішими за регульовані. У ЄС сертифікація регулюється Директивами 2014/20/EU та 2014/21/21/EU. Програми сертифікації насіння зазвичай починаються з виробництва та розмноження *in vitro* мікорослин, вільних від патогенів. У рамках схеми сертифікації використання мінібульб, вирощених із вільних від патогенів рослин *in vitro*, значно сприяє контролю захворювання.

Фізичні й хімічні заходи обробки насінневих бульб мають бути зосереджені на зменшенні популяції збудників у латентно інфікованих бульбах (Czajkowski et al., 2011b; Charkowski et al., 2015). Однак нездатність цих обробок повністю знищити бактерії, розташовані глибоко в судинній системі бульби або в чечевичках, без негативного впливу на рослину або розвиток бульби, значно обмежує їхню ефективність. Наприклад, фізичні методи обробки насіння, такі як гаряча вода, пара, гаряче сухе повітря та ультрафіолетове випромінювання, є екологічно чистими та визнаними такими, що конкурують з біологічними та хімічними методами, оскільки вони можуть бути ефективними проти широкого спектру патогенів і не потребують реєстрації (Czajkowski et al. 2011b). Але вони можуть негативно вплинути на проростання бульб і впливати на корисні мікроорганізми.

Було протестовано широкий спектр хімічних сполук для зменшення зараження збудниками на або всередині бульб. Більшість сполук містять антибіотики (переважно стрептоміцин та його похідні), неорганічні та органічні солі або комбінації цих сполук (Czajkowski et al.,

2011b). Проте антибіотики не використовуються у виробництві картоплі через ризики запровадження резистентності бактеріальних збудників у людини чи тварин. Як альтернативу антибіотикам було випробувано широкий спектр потенційних бактерицидів (Czajkowski et al., 2011b). Такі органічні сполуки, як гідроксихінолін і 5-нітро-8-гідроксихінолін, були ефективними для боротьби з м'якою гниллю у пошкоджених бульбах картоплі. Неорганічні та органічні солі, включно ацетатом алюмінію, метабісульфатом натрію, пропілпарабенном, бензоатом натрію, сорбатом калію, пропіонатом кальцію, гіпохлоридом натрію, бікарбонатом натрію, хлоридом алюмінію та сульфатом міді можуть пригнічувати ріст *P. atrosepticum in vitro* (Mills and Hurta, 2006). Нещодавно була оцінена здатність бактерицидів і дезінфікуючих засобів, таких як етанол, гіпохлорит натрію, сульфат міді, пероцтова кислота, перекис водню, бензойна кислота, трифосфат натрію та кофеїн, знижувати розвиток збудників (Czajkowski et al., 2013).

Експериментальні дані підтверджують, що інокуляції у насінневих бульбах можна зменшити за допомогою термотерапії та застосування біоцидів. Бактерії, що використовуються у складі препаратів для біоконтролю, виробляють велику різноманітність антимікробних молекул, таких як перекис водню, сидерофори, антибіотики та летючі сполуки. У контрольованих умовах, застосування насінневої картоплі з агентами біоконтролю показало багатообіцяючі результати, але на сьогодні є мало даних про ефективність біоконтролю в польових умовах (Stridh et al., 2022; Cray et al., 2016).

Збалансоване живлення також підвищує природну стійкість до хвороб. Рослини з оптимальним харчовим статусом мають найвищу стійкість до хвороб, тоді як дефіцит або надлишок основних елементів може призвести до підвищеної сприйнятливості до захворювань (Huber et al. 2012). Азот (N) є четвертим за поширеністю елементом у рослинах і міститься в різних частинах рослини в різних формах. N є компонентом білків, ферментів, гормонів, фенольних сполук і фітоалексинів, які впливають на розвиток захворювання (Huber and Thompson, 2007; Elmer and Datnoff, 2014). Дія кальціюпроти збудників м'яких гнилей, очевидно, зумовлена взаємодією іонів Ca з пектином клітинної стінки, що їх зміцнює і призводить до більш високої стійкості до пектинолітичних ферментів, що виділяються бактерії, які діють на руйнування клітинної стінки (White and Broadley, 2003).

Хоча стійкість у диких видів *Solanum* spp. були виявлені, але на сьогодні день жодні гени не були перенесені в комерційних сортів картоплі. Однак нові технології селекції, такі як CRISPR/CAS 9 і використання справжнього насіння картоплі (TPS), дадуть нові можливості для створення стійких сортів.

Вірогідність інтродукції та акліматизації. Оскільки бульби насінневої картоплі є основним джерелом інфекції, збудники м'яких гнилей поширилися до багатьох районів вирощування картоплі у всьому світу внаслідок переміщення в торгівлі зараженими насінневими бульбами. Збудники трапляються на всіх континентах, де вирощують картоплю, і, ймовірно, присутні як сапрофіти в ґрунті, воді, а також є регулярними

мешканцями коренів рослин, коли не спричиняють хвороб (Van der Wolf et al., 2021).

Бактерії також поширюються від заражених бульб через прямий контакт та через забруднені поверхні обладнання, яке використовується у виробництві картоплі, наприклад, насіннерізки, сівалки, жатки, грейдери та транспортні засоби, а також у заражених сховищах і контейнерах. Поширення від рослини до рослини в полі зазвичай низьке, але є деякі експериментальні докази того, що комахи можуть передавати хворобу.

Карантинний ризик складається з двох компонентів: можливість проникнення шкідливого організму з імпортом товаром та можливість розповсюдження його в середні країни (Hadizadeh et al., 2019). Збудники м'яких гнилей виживають упродовж тривалих періодів від багатьох місяців до років у сухому та прохолодному середовищі, досить термо- та холодостійкі бактерії (здатна активно уражувати рослини в температурному діапазоні 17-37 °C) і може уражувати та перебувати, як в філосфері, так і ризосфері рослини. Ще однією важливою особливістю цих бактерій, які можуть сприяти потраплянню з імпортованими рослинами, є можливість перебування у латентному стані в рослині 2-3 роки. І ці 2-3 роки рослина буде виглядати здоровою, без симптомів хвороби.

Висновки та перспективи.

Бактеріальні гнилі є одним із найважливіших біотичних обмежень для виробництва картоплі. Основними збудниками бактеріальних гнилей картоплі в Україні є патогени роду *Pectobacterium*: *P. atrosepticum* та

P. carotovorum subsp. *carotovoru*. Існує висока ймовірність поширення в господарствах збудників гнилей роду *Dickeya*. Збудник кільцевої гнилі картоплі *C. michiganensis* subsp. *sepedonicum* поширений на території України. Його контроль особливо важливий під час виробництва картоплі для експорту. Збудник бурої гнилі *R. solanacearum*, є карантинним об'єктом списку А-2 Європейської та середземноморської організації з карантину і захисту рослин. У разі потрапляння в Україну *R. solanacearum* має високу вірогідність до акліматизації і розповсюдженню в країні.

На сьогодні не існує абсолютно ефективних пестицидів для контролю всіх збудників, отже, заходи захисту від хвороб й надалі покладатимуться насамперед на уникнення інфікування під час вирощування рослин, а особливо, під час виробництва здорового сертифікованого насіння. Щодо такої культури як картопля, це насамперед базується на одержанні вільних від бактерій мінібульб, застосуванні строгих схем сертифікації насіння й суворих фітосанітарних обмежень. Знання джерел патогенів і шляхів інфікування повинно бути підґрунтям застосування фітосанітарних заходів, особливо під час збору врожаю та після збору врожаю.

References

1. Anonymous (2006) Commission Directive 2006/63/EC of 14 July 2006: amending Annexes II to VII to Council Directive 98/57/EC on the control of *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al. Official Journal of the European Communities, L206: 36-106.
2. Aslam MN, Mukhtar T, Hussain MA, Raheel M. (2017) Assessment of resistance to bacterial wilt incited by *Ralstonia solanacearum* in tomato germplasm. Journal of Plant Disease Protection. 124: 585-590. <https://doi.org/10.1007/s41348-017-0100-1>
3. Baştaş KK, Hekimhan H, Maden S, Tör M. (2009) First Report of Bacterial Stalk and Head Rot Disease Caused by *Pectobacterium atrosepticum* on Sunflower in Turkey. Plant Disease. 93(12): 1352. <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-12-1352B>
4. Birch PR, Bryan G, Fenton B, Gilroy EM, Hein I, Jones JT, Toth IK. (2012) Crops that feed the world 8: Potato: are the trends of increased global production sustainable. Food Security, 4(4): 477-508, 10.1007/s12571-012-0220-1
5. Birhane E, Hailemariam M, Gebresamuel G. et al. (2020) Source of mycorrhizal inoculum influences growth of *Faidherbia albida* seedlings. Journal of Forestry Research, 31(1): 313-323. DOI:10.1007/s11676-018-0810-7
6. Bragard C, Dehnen-Schmutz K, Serio F. di, Gonther P, Miret JAJ, Justesen AF, MacLeod A, Magnusson CS, Milonas P, Navas-Cortes JA, Parnell S, Potting R, Reignault PL, Thulke HH, Werf W. van der, Civera AV, Yuen J, Zappalà L, Wolf J. van der, Kaluski T, Pautasso M, Jacques MA. (2019) Pest categorisation of *Clavibacter sepedonicus*. EFSA Journal, 17(4): e05670. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5670>
7. CABI, EPPO (1997) *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. [Distribution map]. In: Distribution Maps of Plant Diseases, Wallingford, UK: CAB International. Map 20. DOI:10.1079/DMPD/20066500020
8. Charkowski A, Blanco C, Condemine G, Expert D, Franza T, Hayes C, Hugouvieux-Cotte-Pattat N, López Solanilla E, Low D, Moleleki L, Pirhonen M, Pitman A, Perna N, Reverchon S, Rodríguez Palenzuela P, San Francisco M, Toth I, Tsuyumu S, van der Waals J, van der Wolf J, Van Gijsegem F, Yang CH, Yedidia I (2012) The role of secretion systems and small molecules in soft-rot enterobacteriaceae pathogenicity. Annu Rev Phytopathol, 50:425-449

9. Charkowski A, Sharma K, Parker ML, Secor GA, Elphinstone J. (2020) Bacterial Diseases of Potato. In: Campos H, Ortiz O. (eds) The Potato Crop. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-030-28683-5_10
10. Charkowski AO (2015) Biology and control of *Pectobacterium* in potato. *Am J Potato Res*, 92(2): 223-229. DOI:10.1007/s12230-015-9447-7
11. Charkowski AO (2018) The changing face of bacterial soft-rot diseases. *Annu Rev Phytopathol*, 56(1): 269-288. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080417-045906>
12. Cray JA, Connor MC, Stevenson A, Houghton JDR, Rangel DEN, Cooke LR, Hallsworth JE. (2016) Biocontrol agents promote growth of potato pathogens, depending on environmental conditions. *Microb. Biotechnol*. 9: 330-354. 10.1111/1751-7915.12349
13. Curland RD, Mainello A, Perry KL, Hao J, Charkowski AO, Bull CT, et al. (2021) Species of *Dickeya* and *Pectobacterium* isolated during an outbreak of blackleg and soft rot of potato in northeastern and north Central United States. *Microorganisms*, 9: 1733. DOI: 10.3390/microorganisms9081733
14. Czajkowski R, de Boer WJ, Velvis H, van der Wolf J. (2010) Systemic colonization of potato plants by a soilborne, green fluorescent protein-tagged strain of *Dickeya* sp. biovar 3. *Phytopathology*, 100: 134-42. DOI: 10.1094/PHYTO-100-2-0134
15. De Boer SH, Elphinstone JG, Schaad NW. (2017) Detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *Sepedonicus* in potato tubers In: Fatmi M, Walcott RR. and Schaad NW. (eds). *Detection of Plant-Pathogenic Bacteria in Seed and Other Planting Material*, 2nd edition American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota, USA: pp. 205–209.
16. Dees MW, Lebecka R, Perminow JIS. et al. (2017) Characterization of *Dickeya* and *Pectobacterium* strains obtained from diseased potato plants in different climatic conditions of Norway and Poland. *Eur. J. Plant Pathol*. 148: 839–851. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-1140-2>
17. EFSA (European Food Safety Authority), Schenk M, Camilleri M, Diakaki M and Vos S (2019) Pest survey card on *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*. EFSA supporting publication 2019: EN-1569. 18pp. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2019.en-1569>
18. Elmer WH, Datnoff LE. (2014) Mineral nutrition and suppression of plant disease. *Encyclopedia Agric. Food Systems* Press (New York: Academic Press), 231-244. doi: 10.1016/B978-0-444-52512-3.00251-5
19. EPPO (2022) EPPO Global database. In: EPPO Global database, Paris, France: EPPO. 1 pp. <https://gd.eppo.int/>
20. Fikowicz-Krosko J, Czajkowski R (2017) Systemic colonization and expression of disease symptoms on bittersweet nightshade (*Solanum dulcamara*) infected with a GFP-tagged *Dickeya solani* IPO2222 (IPO2254). *Plant Dis*, 102(3): 619-627. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-17-1147-RE>
21. García RO, Kerns JP, Thiessen L. (2019) *Ralstonia solanacearum* species complex: a quick diagnostic guide. *Plant Health Progress*, 20(1): 7-13. 10.1094/PHP-04-18-0015-DG
22. Golanowska M, Kielar J, Lojkowska E. (2017) The effect of temperature on the phenotypic features and the maceration ability of *Dickeya solani* strains isolated in Finland, Israel and Poland. *European Journal of Plant Pathology*, 147(4): 803-817. <https://doi.org/10.1007/s10658-016-1044-1>.
23. Golanowska M, Potrykus M, Motyka-Pomajuk A, Kabza M, Bacci G, Galardini M, Bazzicalupo M, Makalowska I, Smalla K, Mengoni A, Hugouvieux-Cotte-Pattat N, Lojkowska E. (2018) Comparison of highly and weakly virulent *Dickeya solani* strains, with a view on the pangenome and panregulon of this species. *Frontiers in Microbiology*, 9: 1940. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01940>.
24. Gryń G, Franke K, Nowakowski MM, Nowakowski M. (2020) Latent infection by *Clavi-*

- bacter sepedonicus and correlation with ring rot symptoms development in potato cultivars. *Potato Research*, 64: 459-468.
25. Hadizadeh I, Peivastegan B, Hannukkala A, Van der Wolf J, Nissinen R, Pirhonen M. (2019) Biological control of potato soft rot caused by *Dickeya solani* and the survival of bacterial antagonists under cold storage conditions. *Plant Pathology*, 68: 297-311. <https://doi.org/10.1111/ppa.12956>
26. Hashemi Tameh M, Primiceri E, Chiriaco MS, Poltronieri P, Bahar M, Maruccio GJB. (2020) *Pectobacterium atrosepticum* biosensor for monitoring blackleg and soft rot disease of potato. *Biosensors (Basel)*, 10(6): 64. doi: 10.3390/bios10060064
27. Huber D, Römhelt V, Weinmann M (2012) Relationship between nutrition, plant diseases and pests. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants (Third Edition)* 3: 283-298. DOI:10.1016/B978-0-12-384905-2.00010-8
28. Huber DM, Thompson IA (2007) Nitrogen and plant disease. In: Datnoff LE, Elmer WH, Huber DM (eds) *Mineral nutrition and plant disease*. APS Press, St. Paul, pp. 31-44 <https://doi.org/10.1146/annurev.py.12.090174.001035>
29. Karim Z, Hossain MS. (2018) Management of bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) of potato: focus on natural bioactive compounds. *Journal of Biodiversity Conservation and Bioresource Management*, 4 (1): 73-92. 10.3329/jbcbm.v4i1.37879
30. Karim Z, Hossain MS. (2018) Management of bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) of potato: focus on natural bioactive compounds. *Journal of Biodiversity Conservation and Bioresource Management*. 4(1): 73-92. <https://doi.org/10.3329/jbcbm.v4i1.37879>.
31. Khairy AM, Tohamy MRA, Zayed MA, Ali MAS. (2021) Detecting pathogenic bacterial wilt disease of potato using biochemical markers and evaluate resistant in some cultivars. *Saudi J. Biol. Sci.*, 28(9): 5193-5203. 10.1016/j.sjbs.2021.05.045
32. Li X, Tambong J, Yuan KX, Chen W, Xu H, Lévesque CA, Boer SH De. (2018) Re-classification of *Clavibacter michiganensis* subspecies on the basis of whole-genome and multi-locus sequence analyses. *Int J Syst Evol Microbiol.*, 68(1): 234-240. DOI: 10.1099/ijsem.0.002492
33. Mackay IM. (2004) Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clinical Microbiology and Infection*, 10(3): 190-212. doi:10.1111/j.1198-743X.2004.00722.x
34. Marquez-Villavicencio MDP, Groves RL, Charkowski AO. (2011) Soft rot disease severity is affected by potato physiology and *Pectobacterium* taxa. *Plant Disease*, 95: 232-241. DOI: 10.1094/PDIS-07-10-0526
35. Milling A, Babujee L, Allen C. (2011) *Ralstonia solanacearum* extracellular polysaccharide is a specific elicitor of defense responses in wilt-resistant tomato plants. *PLoS One*, 6(1): e15853. doi:10.1371/journal.pone.0015853.
36. Mills A, Hurta R (2006) Sensitivity of *Erwinia* spp. to salt compounds in vitro and their effect on the development of soft rot in potato tubers in storage. *Postharvest Biol Technol* 41(2): 208-214 <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.03.015>
37. Motyka-Pomagruk A, Zoledowska S, Sledz W. et al. (2021) The occurrence of bacteria from different species of *Pectobacteriaceae* on seed potato plantations in Poland. *Eur J Plant Pathol*, 159: 309-325. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02163-x>
38. Mumford R, Boonham N, Tomlinson J, Barker I. (2006) Advances in molecular phytoagnostics – new solutions for old problems. *European Journal of Plant Pathology*, 116(1): 1-19. DOI: 10.1007/s10658-006-9037-0
39. Mutimawurugo MC, Wagara IN, Muhinyuza JB, Ogweno JO. (2019) Virulence and characterization of isolates of potato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* (Smith) in Rwanda. *African Journal of Agricultural Research*, 14(6): 311-320, 10.5897/AJAR2018.13686

40. Osdaghi E, van der Wolf JM, Abachi H, Li X, De Boer SH, Ishimaru CA. (2022b) Bacterial ring rot of potato caused by *Clavibacter sepedonicus*: a successful example of defeating the enemy under international regulations. *Molecular Plant Pathology*, 23: 911-932. DOI: 10.1111/mpp.13191
41. Oztruk M, Aksoy HM, Potrykus M, Lojkowska E. (2018) Genotypic and phenotypic variability of *Pectobacterium* strains causing blackleg and soft rot on potato in Turkey. *European Journal of Plant Pathology*, 152: 143-155. DOI:10.1007/s10658-018-1459-y
42. Pstrik KH, Elphinstone J, Pukall R. (2002) Sequence Analysis and Detection of *Ralstonia solanacearum* by Multiplex PCR Amplification of 16S–23S Ribosomal Intergenic Spacer Region with Internal Positive Control. *European Journal of Plant Pathology*, 108: 831-842. <https://doi.org/10.1023/A:1021218201771>
43. Polozhenets V, Nemerytska L. (2019) Diagnosis, symptoms and sources of infection of the black stalk of the potato. *Scientific Dopovid NULES*, 6(82): 1-6.
44. Potrykus M, Golanowska M, Sledz W, Zolewska S, Motyka A, Kolodziejska A, Butrymowicz J, Lojkowska E. (2016) Biodiversity of *Dickeya* spp. isolated from potato plants and water sources in temperate climate. *Plant Disease*, 100(2): 408-417. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-15-0439-RE>.
45. Puaprasert K, Chu C, Saralamba N, Day NP, Nosten F, White NJ, Imwong M. (2018) Real time PCR detection of common CYP2D6 genetic variants and its application in a Karen population study. *Malaria Journal*, 17(1): 427. 10.1186/s12936-018-2579-8
46. Review of the spread of quarantine organisms in Ukraine. Available from: <https://dpss.gov.ua/fitosanitariya-kontrol-u-sferi-nasinnictva-ta-rozsadnictva/fitosanitarnij-kontrol/oglyad-poshirennya-karantinnih-organizmiv-v-ukrayini>.
47. Robert M. (2013) General aspects of the prevention and control of the potato ring rot disease (*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*). *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, 17: 122-124.
48. Rossmann S, Dees MW, Perminow J, Meadow R, Brurberg MB (2018) Soft rot *Enterobacteriaceae* are carried by a large range of insect species in potato fields. *Appl Environ Microbiol*, 84 (12): e00281–e00218. <https://doi.org/10.1128/AEM.00281-18>
49. Sagar V, Jeevalatha A, Mian S, Chakrabarti SK, Gurjar MS, Arora RK, Singh BP. (2014) Potato bacterial wilt in India caused by strains of phylotype I, II and IV of *Ralstonia solanacearum*. *European Journal of Plant Pathology*, 138(1): 51-65, 10.1007/s10658-013-0299-z
50. Stridh LJ, Mostafanezhad H, Andersen CB. et al. (2022) Reduced efficacy of biocontrol agents and plant resistance inducers against potato early blight from greenhouse to field. *J Plant Dis Prot*, 129: 923-938. <https://doi.org/10.1007/s41348-022-00633-4>
51. Timko LV. (2017) Evaluation of the parameters of the adaptive capacity of potato varieties in the conditions of the Right Bank Polissia of Ukraine. *Potato production of Ukraine*. 1–2 (42–43): 18–22.
52. Toth IK, Hyman LJ, Wood JR (1999) A one step PCR-based method for the detection of economically important soft rot *Erwinia* species on micropropagated potato plants. *J Appl Microbiol*, 87: 158–166. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00808.x>
53. Toth IK, van der Wolf JM, Saddler G, Lojkowska E, Hélias V, Pirhonen M, Tsrör (Lahkim) L, Elphinstone JG (2011) *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathol*, 60(3): 385-399. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02427.x>
54. Uwamahoro F, Berlin A, Bucagu C, Bylund H, Yuen J. (2020) *Ralstonia solanacearum* causing potato bacterial wilt: host range and cultivars susceptibility in Rwanda. *Plant Pathology*. 69(3): 559-568. <https://doi.org/10.1111/ppa.13140>.

55. Van der Wolf JM, De Boer SH, Czajkowski R, Cahill G, Van Gijsegem F, Davey T, Brice Dupuis, B, Ellicott J, Jafra S, Kooman M, Toth IK, Tsrer L, Yedidia I, Van der Waals JE. (2021a) Management of diseases caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species. Plant diseases caused by *Dickeya* and *Pectobacterium* species. Springer, Cham. Pages 175-214. https://doi.org/10.1007/978-3-030-61459-1_6
56. Van der Wolf JM, Elphinstone JG, Stead DE, Metzler M, Müller P, Hukkanen A and Karjalainen R. (2005a). Epidemiology of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* in relation to control of bacterial ring rot. Plant Research International, Report 95. Wageningen, The Netherlands, 44 pp. Available online: <https://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/full>
57. van der Wolf JM, Nijhuis EH, Kowalewska MJ (2014b) *Dickeya solani* sp. nov., a pectinolytic plant pathogenic bacterium isolated from potato (*Solanum tuberosum*). International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 64: 768–74. DOI: 10.1099/ijs.0.052944-0
58. Wei Y, Moreno CC, Gongora TJ, Wang K, Sang Y, Duran RL, Macho AP. (2018) The *Ralstonia solanacearum* csp22 peptide, but not flagellin-derived peptides, is perceived by plants from the solanaceae family. Journal of Plant Biotechnology. 16(7): 1-14. <https://doi.org/10.1111/pbi.12874>.
59. White PJ, Broadley MR. (2003) Calcium in plants. Ann. Bot, 92: 487-511. doi: 10.1093/aob/mcgl64

Kolomyets Yu. , Butsenko L. (2023).

POTENTIALLY DANGEROUS CAUSES OF BACTERIAL DISEASES OF POTATOES IN UKRAINE

BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 14(1-2): 26-44.

<http://journals.nubip.edu.ua/index.php/Biologiya/article/view/42703>

[http://dx.doi.org/10.31548/biologiya14\(1-2\).2023.002](http://dx.doi.org/10.31548/biologiya14(1-2).2023.002)

Abstract. An overview of bacterial causative agents of soft (wet) rot of potatoes is given, the epidemiological and etiological aspects of the diseases caused by them are analyzed. When preparing the article, general scientific methods were used: generalization, comparison, system analysis. Data from the European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO), as well as data from phytosanitary services of EU countries and Ukraine, scientific literature served as material for the analytical study. Trade in plant materials, including potato seed tubers and ornamental plants, is largely responsible for the widespread distribution of pathogens. Locally, pathogens are also spread through plant debris, soil, waterways, aerosols, alternative hosts, and/or farm machinery. The main causative agents of bacterial wet rot of potatoes are gram-negative bacteria of the genera *Pectobacterium* and *Dickeya* and quarantine phytopathogens of the genera *Clavibacter* and *Ralstonia*. The main methods of detection and identification in asymptomatic potato tubers on an industrial scale are: phytopathological (visual examination of plantations and registration of symptoms of soft rot), microbiological (cultural-morphological and biochemical method, use of test systems for accelerated identification of microorganisms), immunoenzymatic (enzyme immunoassay), molecular genetic (PCR with specific primers, BIOLOG, DNA fingerprinting and nucleotide sequencing).

To date, there are no completely effective pesticides to control all pathogens, so disease control measures will continue to rely primarily on avoiding infection during plant cultivation, and

*especially during the production of healthy certified seed. For a crop like potatoes, this is primarily based on obtaining bacteria-free minitubers, applying strict seed certification schemes and strict phytosanitary restrictions. Knowledge of the sources of pathogens and routes of infection should be the basis for the application of phytosanitary measures, especially during and after harvest. Control of quarantine phytopathogens requires special attention. Soft rot pathogens are the main cause of limiting potato production in many regions of the world, particularly *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicum* and *R. solanacearum* are quarantine objects of the A-2 list of the European and Mediterranean Organization for Quarantine and Plant Protection. Upon entering our country, *R. solanacearum* has a high probability of acclimatization and spread in the country.*

Key words: *Solanum tuberosum* L., wet (soft) rot, phytopathogenic bacteria, pathogen control, plant quarantine.
