

ЗВІТ
ПРО НАУКОВО-ДОСЛІДНУ РОБОТУ
за договором від 21 березня 2023 року
№110/2-пр-2023

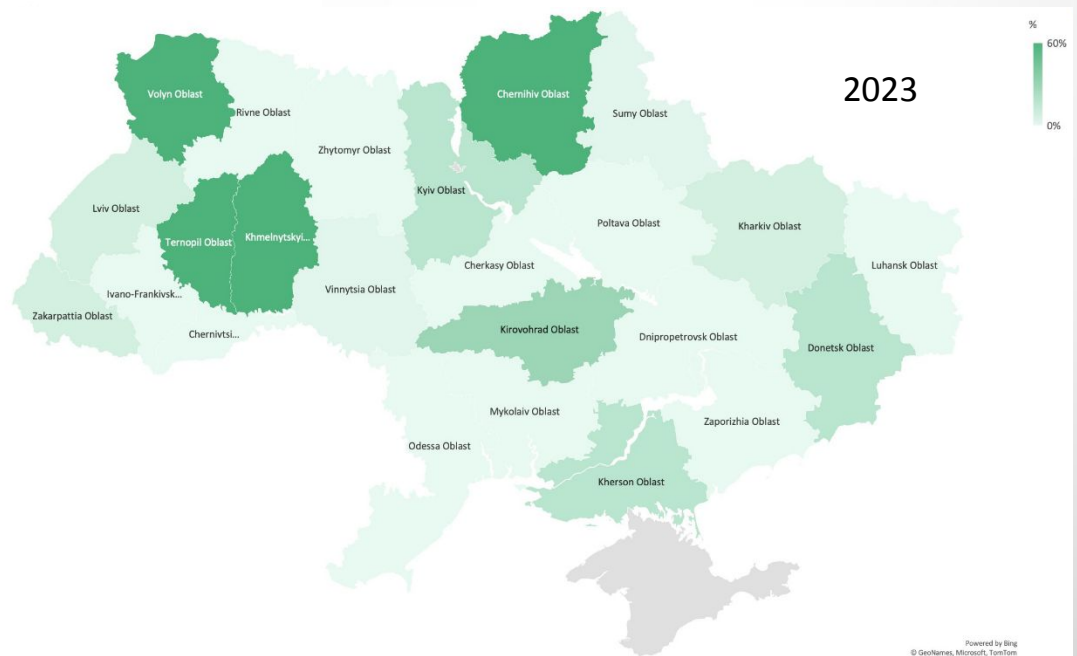
Біотехнологія ідентифікації та контролю
збудників бактеріальних хвороб
пасльонових для вирішення
продовольчої кризи в Україні



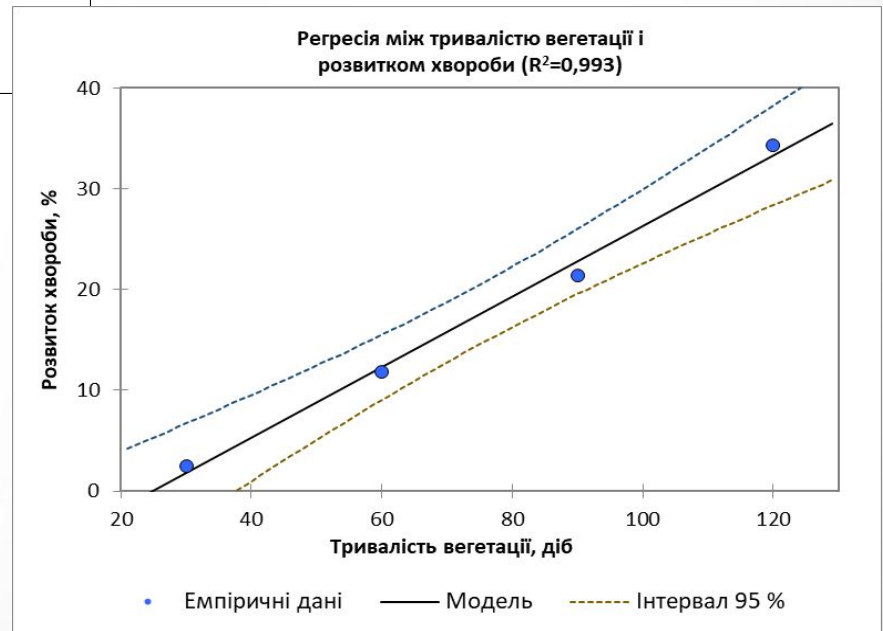
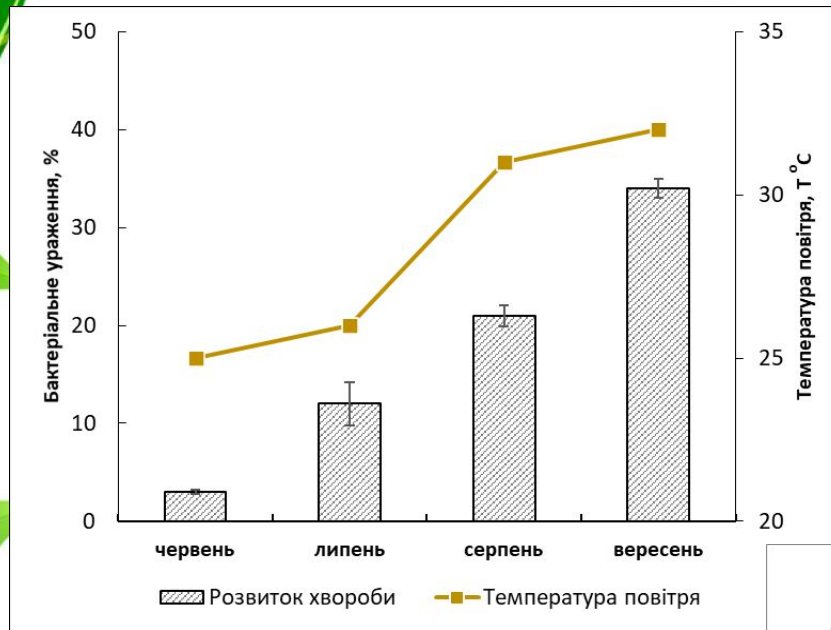
КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН НАУКОВО-ДОСЛІДНОЇ РОБОТИ на 2023 р.

№ п/п	Зміст робіт	Ціна робіт по кварталах, тис. грн.	У % до загальної ціни НДР	Строк виконання	Прізвище виконавця	Форма звітності
I	Оцінити вплив природних шляхів поширення і збереження збудників бактеріальних хвороб в посівах овочевих культур в Україні. Виділити з уражених листків і плодів овочевих і лікарських рослин родини Пасльонових ізоляти бактерій і довести їх причетність до патологічного процесу	64,4	9,2	21.03-31.04. 2023 р.	Коломієць Ю.В., Кваско О. Ю., Буценко Л. М., Субін О.В., Лісовий О. А., Озадовська Я.О., Трукіна М.В.	Акт – приймання здачі робіт. Короткий звіт.

ПОШИРЕНІСТЬ І РОЗВИТОК БАКТЕРІАЛЬНИХ ХВОРОБ ПАСЛЬОНОВИХ В ОБЛАСТЯХ УКРАЇНИ ПРОТЯГОМ



ДИНАМІКА РОЗВИТКУ М'ЯКОЇ ГНИЛІ НА КАРТОПЛІ У ГОСПОДАРСТВАХ КИЇВСЬКОЇ ОБЛАСТІ 2023 РОКУ



КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН НАУКОВО-ДОСЛІДНОЇ РОБОТИ на 2023 р.

№ п/п	Зміст робіт	Ціна робіт по кварталах, тис. грн.	У % до загальної ціни НДР	Строк виконання	Прізвище виконавця	Форма звітності
II	Удосконалити систему скринінгових тестів для ідентифікації збудників бактеріальних хвороб і вивчення патогенності, морфолого-культуральних та біохімічних ознак	196,0	28,0	01.04-30.06. 2023 р.	Коломієць Ю.В., Кваско О. Ю., Буценко Л. М., Субін О.В., Лісовий О. А., Озадовська Я.О., Трукіна М. В., Лікар Я. О.	Акт – приймання здачі робіт. Короткий звіт.

ТИПОВІ СИМПТОМИ НА РОСЛИНАХ І БУЛЬБАХ КАРТОПЛІ УРАЖЕНИХ ЗБУДНИКАМИ БАКТЕРІАЛЬНИХ ХВОРОБ



Рис. 1. Симптоми м'якої гнилі на рослинах картоплі: ураження листків (хлоротичні зони по краю листка); стебла

ТИПОВІ СИМПТОМИ НА РОСЛИНАХ І БУЛЬБАХ КАРТОПЛІ УРАЖЕНИХ ЗБУДНИКАМИ БАКТЕРІАЛЬНИХ ХВОРОБ

Морфологічні характеристики колоній вірулентних ізолятів

Розмір колоній	2–4 мм
Форма	Кругла
Колір	Сірувато-білі
Пігмент в середовищі	Не утворювали
Краї	Хвилясті
Консистенція	Щільна
Прозорість	Прозорі, напівпрозорі
Поверхня	Рівна блискуча



ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЗБУДНИКА М'ЯКОЇ ГНИЛІ КАРТОПЛІ

Тест	Штами, виділені в господарствах Київської області			P. carotovorum subsp. carotovorum УКМ В-1075 ^T	P. carotovorum порівняно до літературних даних
	14-1	12-2	15-1		
β-галактозидаза	+	+	+	+	a/d
Аргінін дигідролаза	–	–	–	–	– (5 % +)
Лізин декарбоксилаза	–	–	–	–	– (5 % +)
Орнітин декарбоксилаза	–	–	–	–	– (5 % +)
Утилізація цитратів	+	+	+	+	a/d
Утворення H ₂ S	–	–	–	–	+
Уреаза	–	–	–	–	–
Триптофан деаміназа	–	–	–	–	–
Утворення індолу	–	–	–	–	–
Утворення ацетону (реакція Voges-Proskauer)	–	–	–	–	+/-
Желатіназа	+	+	+	+	+
Використання джерел вуглецю					
D-глюкоза	+	+	+	+	+
D-манітол	+	+	+	+	+
інозїтол	+	+	+	–	B
D-сорбіт	–	–	–	–	+
L-рамноза	+	+	+	+	+
D-сахароза	+	+	+	+	+/-
D-мелїбіоза	+	+	+	+	+
Амігдалін	+	+	+	+	+
L-арабіноза	+	+	+	+	+
Відновлення нітратів	–	–	–	–	–

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН НАУКОВО-ДОСЛІДНОЇ РОБОТИ на 2023 р.

№ п/п	Зміст робіт	Ціна робіт по кварталах, тис. грн.	У % до загальної ціни НДР	Строк виконання	Прізвище виконавця	Форма звітності
III	Провести аналіз спектра жирних кислот сумарних клітинних ліпідів збудників.	215,6	30,8	01.07-30.09. 2023 р.	Коломієць Ю.В., Кваско О. Ю., Буценко Л. М., Блюм Я.Б., Ємець А.І., Субін О.В., Лісовий О. А., Кляченко О.Л.	Акт – приймання здачі робіт. Короткий звіт.

СПЕКТР ЖИРНИХ КИСЛОТ СУМАРНИХ КЛІТИННИХ ЛІПІДІВ ШТАМІВ, ЯКІ ВИДІЛЕНО ІЗ УРАЖЕНИХ РОСЛИН З ОЗНАКАМИ М'ЯКОЇ ГНИЛІ ТОМАТІВ

Жирні кислоти		Середня кількість ЖК, % від загального вмісту			
Формула	Назва	14-1	12-2	15-1	P. carotovorum УКМ В-1075 ^T
C12:0	Додеканова	3,73	3,78	3,74	3,62
3-ОНС14:0	3-гідрокситетрадеканова	1,17	1,13	1,15	1,14
C 15:0	пентадеканова	1,77	1,89	1,8	1,71
C 16:1	cis-9-гексадеценава	33,40	34,90	34,1	34,67
C 16:0	гексадеканова	36,56	35,06	35,93	35,44
C 17:0 cyclo	cis-9,10- метилгексадеканова	1,37	1,32	1,33	0,95
C 18:1	cis-11-октадеценава	21,22	20,98	21,11	21,52
C 18:0	октадеканова	0,78	0,94	0,84	0,95

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН НАУКОВО-ДОСЛІДНОЇ РОБОТИ на 2023 р.

№ п/п	Зміст робіт	Ціна робіт по кварталах, тис. грн.	У % до загальної ціни НДР	Строк виконання	Прізвище виконавця	Форма звітності
IV	Оцінка фізіолого-біохімічних властивостей збудника. Характеристика бактеріальної мікробіоти рослин родини Пасльонових, уражених м'якими гнилями	224,0	32,0	01.10-31.11.2023 р.	Коломієць Ю.В., Кваско О. Ю. Буценко Л. М., Блюм Я.Б., Ємець А.І., Субін О.В., Лісовий О. А., Бондарь В. І.	Акт – приймання здачі робіт. Проміжний звіт.

ФІЗІОЛОГІЧНІ ТА БІОХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ НАЙПОШИРЕНІШИХ ЕНТЕРОБАКТЕРІЙ М'ЯКОЇ ГНИЛІ КАРТОПЛІ

Тест	<i>P. atrosepticum</i>	<i>D. solani</i>
Розщеплення пектину на напівселективному середовищі СVP (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	-	+

ФІЗІОЛОГО-МОРФОЛОГІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ БАКТЕРІАЛЬНИХ ЗБУДНИКІВ МОКРИХ ГНИЛЕЙ

	Dickeya	Pectobacterium
Розмір колоній	2–4 мм	2–4 мм
Форма	Кругла	Кругла
Колір	Світло-сірі	Сірувато-білі
Пігмент в середовищі	Не утворюють	Не утворюють
Краї	Хвилясті	Хвилясті
Консистенція	Щільна	Щільна
Прозорість	Прозорі, напівпрозорі	Прозорі, напівпрозорі
Поверхня	Рівна блискуча	Рівна блискуча
Форма клітин	Палички	Палички
Утворення спор	Не утворюють	Не утворюють
Рухливість	Рухливі за допомогою перетріхіально розташованих джгутиків	Рухливі за допомогою перетріхіально розташованих джгутиків
Фарбування за Грамом	Грамнегативні	Грамнегативні
Відношення до кисню	Факультативний анаероб	Факультативний анаероб
Каталаза	Утворюють	Утворюють
Оксидаза	Негативна	Негативна
Пектатліаза	Утворюють	Утворюють
Желатиназа	Утворюють	Утворюють
Лецитиназа	Утворюють	Не утворюють
Утворення індолу	Утворюють	Не утворюють
Ріст на середовищі з 5% NaCl	Не ростуть	Ростуть

НУКЛЕОТИДНІ ПОСЛІДОВНОСТІ РОЗРОБЛЕНИХ ПРАЙМЕРІВ ДЛЯ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ЗБУДНИКІВ БАКТЕРІОЗІВ ПАСЛЬОНОВИХ КУЛЬТУР

Збудник	Ген-мішень	Праймери 5'...3'	Tm, °C	Очікуваний продукт ампліфікації, bp	№ референтного гена в БД Genbank
<i>C. michiganensis</i> <i>subsp</i> <i>michiganensis</i>	<i>rhuM</i>	CMM/rhuM-F:GATGTGAGGCGGGAGATGAC	60	227	NZ_CP076349.1
		CMM/rhuM-R:TTCTCGGACGAACGGATGTC			
		CMM/rhuM-Probe:FAM- ACTACTTCGACGAGCTCCTC			
	<i>rhuM</i>	CMM/1-F:CGGGAGGGAAATCGTGATGT	60	622	NZ_CP076349.1
		CMM/1-R:CGTCGAATAGGAGGAAGCCA			
<i>P. carotovorum</i>	<i>pelB</i>	Pecto/Pelb-F: GGCAAGAAAGTCAAAGGCGG	60	195	NZ_JACJFR010000012.1
		Pecto/Pelb-R: CCAAACACCGAAGTTGGCAG			
		Pecto/Pelb-Probe: FAM- TGCTTACCCGCTCATCATCA			
	<i>pelB</i>	P/Pelb-F: CTGCCAACTTCGGTGTGG	60	441	
		P/Pelb-R: TCTGACGCACGTAAAGCCT			
<i>P. corrugata</i>	<i>RfiA</i>	PSCorr/RfiA-F: GGATTCGACCCCACAAAAGG	59	185	KF192265.2
		PSCorr/RfiA-R: CATGTTCTGTGCCGTGAAT			
<i>P. syringae</i> pv. <i>tomato</i>	<i>avrRpt2</i>	Ps/RPt2-F: CCATAAATCACAGCCCGCTC	59	263	L11355.1
		Ps/RPt2-R: GCTCGAACTATCTGCGTTGG			
	<i>avrE</i>	Psy/avrE-F: CCTCATCCGGTTTCTTGCTT	60	592	AE016853.1
		Psy/avrE-R: GACCATGAGAGCTACGAGGC			
<i>flgL</i>	Pseudo/flgl-F: GCGGGAAGGTGTTGTTGAAC	60	247	KN265550.1	
	Pseudo/flgl-R: TTCGCTGACCAGACCTTCAC				
<i>R. solanacearum</i>	<i>hrpA</i>	RS/HRP-F: GTCGAGCAGTCCCCTTCAT	60	346	NZ_CP051296.1
		RS/HRP-R: GCCTCTTCGAACCACTTCCA			

ВИСНОВКИ

- 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 при виробництві картоплі для експорту. Збудник бурої гнилі *R. solanacearum*, є карантинним об'єктом списку А-2 Європейської та середземноморської організації з карантину і захисту рослин. При потраплянні в нашу країну *R. solanacearum* має високу вірогідність до акліматизації і розповсюдженню у країні.
- 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.
- Фітопатогенні бактерії бактерій роду *Dickeya* становлять небезпеку при вирощуванні картоплі на території України та за відсутності належної уваги з боку агрономів та фітопатологів можуть спричинювати економічно відчутні втрати врожаю цієї культури. Найважливішим заходом контролю збудників роду *Dickeya* є своєчасне виявлення фітопатогену на насінневому матеріалі.
- На основі морфологічних, культуральних, фізіологічних і біохімічних характеристик ізоляти фітопатогенних пектолітичних бактерій з господарства Київської області України віднесено до виду *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*.

ЗВІТНА ДОКУМЕНТАЦІЯ

Статті, надруковані у фахових вітчизняних та іноземних виданнях, які входять до наукометричних баз даних Scopus

1. Bilous S., Likhanov A., Boroday V.; Marchuk Y., Zelena L., Subin O., Bilous A. Antifungal Activity and Effect of Plant-Associated Bacteria on Phenolic Synthesis of *Quercus robur* L. *Plants*. 2023. 12:1352.
2. Likhanov A., Klyachenko O., Subin O., Prysiazhniuk L., Melnychuk M. Influence of Quercetin-Ferrum Complex on the Biochemical Profile of Berry Crops *In Vitro*. *Ecological Engineering & Environmental Technology*. 2023; 24(5):111-116.
3. Buziashvili A., Yemets A. Lactoferrin and its role in biotechnological strategies for plant defense against pathogens. *Transgenic Research*. 2023. 32(1-2): 1–16
4. Kolupaev, Y.E., Yemets, A.I., Yastreb, T.O., Blume, Y.B. The role of nitric oxide and hydrogen sulfide in regulation of redox homeostasis at extreme temperatures in plants. *Frontiers in Plant Science*. 2023. 14: 1128439
5. Kolupaev, Y.E., Yastreb, T.O., Ryabchun, N.I., Dmitriev, O.P., Blume, Y.B. Cellular Mechanisms of the Formation of Plant Adaptive Responses to High Temperatures. *Cytology and Genetics*. 2023. 57(1): 55–75

Статті у фахових виданнях:

1. Коломієць Ю.В., Буценко Л.М. Потенційно небезпечні збудники бактеріальних хвороб картоплі в Україні. *Біологічні системи: теорія та інновації*. 2023. 14(1-2): 35-49.
2. Коломієць Ю.В., Буценко Л.М., Озадовська Я.О., Лісовий О.А. Збудники м'яких гнилей овочевих культур роду *Dickeya*. *Біологічні системи: теорія та інновації*. 2023. 14(3-4): 35-49.

Монографії:

1. Ковбасенко Р.В., Коломієць Ю.В., Білявська Л.О., Теслюк В.В., Ковбасенко В.М., Сергійчук Н.М., Афанасьєва О.Г., Мельник В.І. Особливості патогенезу збудників корневих гнилей та підвищення стійкості рослин: монографія. К.: ФОП Ямчинський О.В., 2023. 367 с.
2. Ковбасенко Р.В., Теслюк В.В., Шотик М.В., Ковбасенко В.М., Коломієць Ю.В., Піковський М.Й. Особливості регулювання патогенезу хвороб рослин. К.: ФОП Ямчинський О.В., 2023. 320 с