

УДК 579.84:632.35:631.5

Збудник базального бактеріозу в агрофітоценозі пшениці

Буценко Л. М.¹, кандидат біологічних наук
 Пасічник Л. А.¹, доктор біологічних наук
 Коломієць Ю. В.², доктор сільськогосподарських наук
 Дуб'янська С. А.³

¹Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України
 Україна, 03134, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 154

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

³Національний університет харчових технологій
 Україна, 01033, м. Київ, вул. Володимирська, 68
 e-mail: plant_path@ukr.net

Мета. Виявити збудника базального бактеріозу пшениці *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* на рослині-хазяїні та сегетальній рослинності в агрофітоценозі пшениці за інтенсивної і органічної систем її вирощування та визначити його шкідливість. **Методи.** Ізолювання *P. syringae* pv. *atrofaciens* (McCulloch 1920) Young, Dye & Wilkie 1978 із рослин пшениці та сегетальних рослин у її посівах проводили у 2012–2016 рр. у трьох областях України (Київській, Полтавській і Чернігівській). Для вивчення властивостей бактерій використовували морфолого-культуральні, фізіолого-біохімічні, серологічні і молекулярно-біологічні методи. Антигенні властивості штамів бактерій *P. syringae* вивчали за реакціями аглютинації і преципітації, патогенні властивості досліджували шляхом штучного зараження рослин пшениці у фазі трубкування. Для визначення гетерогенності популяції збудника базального бактеріозу та ідентифікації бактерій використовували RAPD-ПЛР і електрофорез білків зовнішньої мембрани бактерій. **Результати.** На всіх обстежених полях у Київській, Полтавській і Чернігівській областях виявили рослини пшениці із характерними для базального бактеріозу ураженнями. За патогенними, морфологічними, культуральними, фізіолого-біохімічними властивостями виділені із рослин пшениці ізоляти ідентифіковано як *P. syringae* pv. *atrofaciens*. Ізольовані із уражених рослин пшениці штами *P. syringae* pv. *atrofaciens* були вірулентними, 80 % ізолятів характеризувалися високою і середньою агресивністю щодо рослини-хазяїна. Із бур'янів, що росли в посівах пшениці, було ізольовано вірулентні для рослини-хазяїна і рослин пшениці бактерії, які за морфолого-фізіологічними і біохімічними ознаками належать до виду *P. syringae*. За даними серологічних властивостей, RAPD-ПЛР аналізу з праймером ОРА-13 і ДСН-ПААГ профілів білків можна стверджувати, що штами, виділені нами із уражених бактеріозом бур'янів у агрофітоценозі пшениці, належать до *P. syringae* pv. *atrofaciens*. **Висновки.** Домінуючим збудником базального бактеріозу пшениці в Україні є *P. syringae* pv. *atrofaciens*, який уражує цю культуру як за інтенсивної, так і за органічної технології вирощування. Уперше із бур'янів, що росли в посівах пшениці, було ізольовано вірулентні для рослини-хазяїна і рослин пшениці бактерії *P. syringae* pv. *atrofaciens*.

Ключові слова: *P. syringae* pv. *atrofaciens*, поширення, пшениця, бур'яни

Вступ. Незважаючи на численні повідомлення про бактеріальні хвороби пшениці в усьому світі вивчення бактерій, що спричиняють ці хвороби, за-

лишається обмеженим, а кількісна інформація, наприклад, про втрати врожаю та епідеміологію захворювання часто є недоступною [1, 2]. Крім того, дані щодо поширення бактеріальних хвороб досить часто не відповідають реальному стану речей, оскільки базуються лише на спостереженні за симптомами без ізолювання збудника і підтвердження його ідентичності [1, 3].

Аналіз літературних джерел, постановка проблеми. Найпоширенішими збудниками бактеріальних хвороб пшениці у світі є *Pseudomonas syringae* pv. *atropfaciens*, *P. syringae* pv. *syringae*, *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa* [1, 2, 4]. В Україні серед збудників бактеріальних хвороб зернових культур найчастіше трапляється *P. syringae* pv. *atropfaciens* [5]. Він є основним збудником бактеріальних хвороб пшениці також у Росії [6], Болгарії [7, 8], країнах Центральної Європи [9, 10], Новій Зеландії [11], Ірані [12]. Хвороба, яку спричиняє *Pseudomonas syringae* pv. *atropfaciens* (McCulloch 1920) Young, Dye & Wilkie 1978 на пшениці, отримала назву базальний бактеріоз пшениці, базальна гниль лусочок, базальна плямистість лусочок, гниль колоска, «basal glume rot».

З часу відкриття збудника є декілька підтверджених повідомлень про спричинені ним епіфітотії у Південній Дакоті (США) [13], Німеччині [14] і Краснодарському краї Російської Федерації [15]. Окрім втрат урожаю *P. syringae* pv. *atropfaciens* спричиняє значне погіршення якості зерна пшениці [14]. Базальний бактеріоз активно розвивається у прохолодні вологі роки. Його поширенню сприяє низька температура (15–18 °C) в період від початку колосіння до досягання, а також підвищена вологість повітря (понад 60–65 %) і велика кількість опадів перед наливом зерна. Оптимальною температурою для розвитку базального бактеріозу є 23–25 °C [16]. Характерна ознака цієї хвороби – ураження нижньої частини лусочки. Однак у процесі вегетації трапляються ураження верхньої її частини та плямистості різних частин рослини. На початку розвитку хвороби у фазі сходів на листях утворюються прозорі водянисті, маслянисті, коричневі, білуваті чи жовті витягнуті плями. З часом вони видовжуються, підсихають, буріють, а по їхньому краю з'являється коричнева, коричнево-бура або червоно-бура облямівка [1, 4].

Уражене збудником зерно пшениці на зародковому, або базальному кінці має плями від світло-коричневого до вугільно-чорного кольору. Хоча цей симптом характерний для ураження *P. syringae* pv. *atropfaciens*, він не є специфічним і може траплятися за ураження зерна іншими збудниками, такими як *Bipolaris sorokiniana* і *Alternaria alternata* [1]. Загалом необхідно зазначити, що внаслідок схожості симптомів хвороб, спричинених бактеріями і міксоміцетами, відсутня достовірна інформація про поширення бактеріозів, результатом чого є застосування некоректних заходів для контролю збудників [4].

Pseudomonas syringae – добре відомий епіфіт, що є звичайним мешканцем філосфери і демонструє добру адаптованість до виживання у цій екологічній ніші. Дослідники вважають, що саме великі епіфітні популяції *P. syringae* є первинним інокулюмом за інфікування рослин [17, 18].

Зміна кліматичних умов, використання великої кількості хімічних речовин в умовах інтенсивного ведення сільського господарства і різних способів господарювання призводять у кінцевому результаті до зміни розповсюдженості і структури популяції збудника, зростання його агресивності і збільшення частки бактеріальних захворювань у загальному обсягу хвороб зернових культур.

Отже, вивчення розповсюдження, екологічних ніш і властивостей збудників бактеріальних хвороб, зокрема *P. syringae* pv. *atrofaciens*, не втрачає своєї актуальності.

Мета досліджень – виявити збудника базального бактеріозу пшениці *P. syringae* pv. *atrofaciens* на рослині-хазяїні та сегетальній рослинності в агрофітоценозі пшениці за інтенсивної і органічної систем її вирощування та визначити його шкідливість.

Матеріал і методи. Ізолювання *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* (McCulloch 1920) Young, Dye & Wilkie 1978 із рослин пшениці та сегетальних рослин у її посівах проводили у 2012–2016 рр. у трьох областях (Київській, Полтавській і Черкаській). Для аналізу відбирали рослини пшениці та сегетальні рослини з типовими для бактеріального ураження симптомами. Ізолювання бактерій здійснювали шляхом висіву на пластини картопляного агару розтертих із 0,1 мл стерильної води шматочків, взятих на межі здорових і уражених тканин рослини. Для вивчення властивостей бактерій використовували морфолого-культуральні, фізіолого-біохімічні, серологічні і молекулярно-біологічні методи.

Визначали морфологію і структуру колоній бактерій, що виростили на картопляному агарі в чашках Петрі через кілька діб [19]. Морфологію клітин визначали за допомогою світлового мікроскопа у препаратах, забарвлених за Грамом [19, 20]. З метою вивчення здатності ізолятів бактерій засвоювати окремі вуглеводи, як єдине джерело вуглецевого живлення, їх культивували на середовищі Омелянського з індикатором і джерелом вуглецю [19, 20].

Антигенні властивості штамів бактерій *P. syringae* вивчали за реакціями аглютинації і подвійної дифузії в агарі [21]. Для цього використовували антисироватки до штамів *P. syringae* п'яти серологічних груп (I, II, IV–VI), що трапляються на зернових культурах: *P. syringae* pv. *atrofaciens* 8281 – серогрупа I; *P. syringae* pv. *atrofaciens* K-1025 – серогрупа II; *P. syringae* pv. *atrofaciens* PDDCC 4394 – серогрупа IV; *P. syringae* pv. *atrofaciens* 948 – серогрупа V; *P. syringae* pv. *atrofaciens* 7194 – серогрупа VI.

Реакцію преципітації здійснювали в 1,2 % агаровому гелі, що містив мертиолят як консервант (10 мг на 100 мл гелю). За наявності серологічної спорідненості бактерій утворюються лінії преципітації у вигляді дуг, що являють собою осад, який випав у результаті взаємодії споріднених антигенів і антитіл. Для серогрупування штамів бактерій використовували відому схему [22].

Патогенні властивості досліджуваних штамів у польових умовах вивчали шляхом штучного зараження рослин пшениці у фазі трубкування. Про вірулентні властивості свідчив розвиток помітних ознак ураження. Результати штучного зараження обраховували через 10–14 діб за 4-бальною шкалою і визначали середній бал прояву захворювання для десяти інокульованих рослин [20]. Патогенні властивості ізолятів бактерій із сегетальної рослинності визначали шляхом штучного зараження виду рослин, з якого ізолят було виділено, використовуючи суспензію одно-, дводобових клітин бактерій, що наносили на поверхню листя з подальшим потрійним пораненням голкою або вводили у стебло шприцом. Як контроль використовували введену в рослину стерильну водогінну воду. Повторність дослідів 5–7-разова.

Визначення гетерогенності популяції збудника базального бактеріозу, підтвердження приналежності штамів, які були ізольовані із сегетальної рослинності, та ідентифікацію бактерій після оброблення пестицидами здійснювали за використання RAPD-ПЛР і електрофорезу білків зовнішньої мембрани бактерій у поліакриламідному гелі, що є загально-визнаними і чутливими методами ідентифікації бактерій [23–26]. Для постановки RAPD-ПЛР зі штамми *P. syringae* використали праймер ОРА-13 (5'-CAGCACCCAC-3'). Спорідненість штамів, виділених із різних бур'янів, вивчали також за методом електрофоретичного розділення бактеріальних білків у поліакриламідному гелі за присутності додецилсульфату натрію, вперше запропонованим Laemmli (1970) [19]. Спорідненість одержаних профілів порівнювали візуально і аналізували за допомогою комп'ютерних програм Gel-Pro Analyzer, PAST ver. 1.81. На основі отриманих результатів будували дендрограми спорідненості штамів *P. syringae*. Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали у програмі Statistica 5.0.

Обговорення результатів. На всіх обстежених полях у Київській, Полтавській і Чернігівській областях виявили рослини пшениці із характерними для базального бактеріозу ураженнями. Найчастіше спостерігали ураження у вигляді світло-коричневих чи бежевих плям з коричневою або коричнево-бурою облямівкою на лусочках і листках. За обстеження посівів пшениці, вирощуваної в умовах органічного землеробства, спостерігали меншу аніж за інтенсивної системи землеробства кількість симптомів, що характерні для бактеріальних хвороб.

За результатами проведеного мікробіологічного аналізу 405 сорторазків пшениці з типовими для бактеріальних хвороб симптомами виділено 140 ізолятів, які за морфологічними ознаками віднесено до роду *Pseudomonas*. За результатами подальшого аналізу відібрали 28 грамнегативних оксидазонегативних ізолятів, які за штучного зараження були вірулентними для рослин пшениці.

За морфологією колоній виділені патогенні ізоляти були сірими прозорими чи напівпрозорими, плоскими чи зі злегка випуклим центром, іноді з концентричними колами, хвилястими краями. Загалом із пшениці було виділено вірулентних ізолятів бактерій у Київській області 16, у Полтавській – 11, у Черкаській – 1.

Усі виділені із пшениці вірулентні оксидазонегативні ізоляти індукували реакцію надчутливості (РНЧ) в листках тютюну і реакцію мікроаглютинації з поліштамовою антисироваткою до штамів п'яти серологічних груп *P. syringae* (табл. 1).

За штучного зараження пшениці у фазі виходу у трубку на стеблі і листках утворювалися плями, подібні до тих, які спостерігали в природних умовах, а саме: світло-коричневі, бурі, бежеві з темно-коричневою облямівкою. Часто інокульовані вірулентними ізолятами рослини не виколошувались.

Необхідно зауважити, що виділені із рослин пшениці із ознаками базального бактеріозу ізоляти мали різну агресивність за штучної інокуляції рослини-хазяїна (див. табл. 1). Більшість ізолятів характеризувалися високою (30 % ізолятів) і середньою (50 % ізолятів) агресивністю. Низьку агресивність щодо пшениці за штучної інокуляції мали 20 % виділених ізолятів. За патогенними, морфологічними, культуральними, фізіологобіохімічними властивостями виділені нами із рослин пшениці ізоляти ідентифіковано як *P. syringae* рв. *atrofaciens*.

Отже, за результатами проведених досліджень встановлено, що збудник базального бактеріозу поширений в усіх обстежених нами областях і спричиняє ураження пшениці як за інтенсивної, так і за органічної технологій вирощування. Ізольовані із уражених рослин пшениці штами *P. syringae* рв. *atrofaciens* були вірулентними, 80 % ізолятів характеризувалися високою і середньою агресивністю щодо рослини-хазяїна.

Відомо, що збудник базального бактеріозу пшениці може тривалий час перебувати як епіфіт на незернових культурах [27] та однорічних і багаторічних бур'янах [28]. Поля України характеризуються значною забур'яненістю. Тому виявлення збудника базального бактеріозу серед мікробіоти сегетальної рослинності в агрофітоценозі пшениці та оцінка її як місця резервації цього збудника є актуальним завданням.

На полях за інтенсивної та органічної систем землеробства було ідентифіковано такі однорічні та багаторічні бур'яни: берізка польова, будяк

Таблиця 1. Характеристика бактерій *Pseudomonas syringae*, виділених із пшениці

Область	Сорт	Номер ізоляту	Вірулентні властивості ізоляту		Реакція мікроаглютинації із поліштамовою сироваткою
			індукція РНЧ на листках тютюну	штучне зараження пшениці, бал	
Київська	Столична	9447	+	2	+
		9748	+	2-3	+
		9752	+	2	+
Полтавська	Левада	9771	+	4	+
Полтавська	Подолянка	9775	+	2-3	+
		9776	+	2	+
		9780	+	1	+
Полтавська	Косач	9785	+	3	+
Київська	Славна	9819	+	3	+
Київська	Столична	9833	+	2	+
		9837	+	2-3	+
Київська	Дорідна	9847а	+	2-3	+
Полтавська	Смуглянка	9853	+	2	+
Полтавська	Поліська 90	9857а	+	2	+
		9858	+	2-3	+
Черкаська	Гарне (тритикале)	9878	+	3	+
Київська	Веселка	9894	+	1-2	+
		9894а	+	2	+
Київська	Кесарія	9895	+	2	+
		9896	+	3-4	+
Полтавська	Антонівка	9899	+	2-3	+
		9900	+	3	+
Полтавська	Подолянка	9906	+	4	+
Київська	Щедрівка Київська	9938	+	3-4	+
		9939	+	4	+
		9940	+	1	+
		9942	+	1	+
		9952	+	1	+

Примітка. * + тут і далі – позитивна ознака

польовий, вероніка дібровна, гірчак берізкоподібний, грицики, грястиця збірна, гірчиця польова, енотера дворічна, зірочник середній, жабрій звичайний, кульбаба лікарська, лобода біла, мишій сизий, молочай серпоподібний, осот польовий, підмаренник чіпкий, пирій повзучий, плоскуха звичайна, тонконіг лучний, тонконіг однорічний, фіалка польова, хвоц польовий, шучник дернистий.

Для виявлення збудників бактеріальних хвороб відібрали зразки рослин із ознаками бактеріального ураження на листках, стеблах і пагонах. Із сегетальної рослинності у посівах пшениці загалом було виділено 194 вірулентні для рослини-хазяїна ізоляти бактерій, які розрізнялися за морфологічними ознаками. Серед цих ізолятів 58 % утворюють сірі,

напівпрозорі, гладенькі, округлі колонії діаметром 1,0–2,5 мм зі злегка хвилястими краями, ущільненим і випуклим центром. Вказані ізоляти бактерій за морфологією були найбільш подібні до представників роду *Pseudomonas*. Ізоляти з колоніями такого типу раніше ідентифікували як збудників хвороб пирію повзучого, райграсу високого і берізки польової [29, 30]. Ізоляти бактерій роду *Pseudomonas* було виділено із берізки польової, будяка польового, грициків звичайних, енетери дворічної, лободи білої, осоту польового, пирію повзучого, підмаренника чіпкого, плоскухи звичайної, редьки дикої, хвощу польового.

Серед ізолятів, що на картопляному агарі утворюють сірі напівпрозорі колонії, було відібрано 43 оксидазонегативні ізоляти, які показали позитивну реакцію надчутливості на листках тютюну. За основними властивостями ці ізоляти не відрізнялися від типового штаму *P. syringae* pv. *syringae* УКМ В-1027 і неопатотипового *P. syringae* pv. *atofaciens* УКМ В-1011. На підставі досліджених властивостей 41 ізолят бактерій ідентифіковано як *P. syringae*. Бактерії патоварів *P. syringae*, які уражують зернові культури, не різняться за основними фізіолого-біохімічними властивостями, але їх розрізняють за спеціалізацією щодо рослини-хазяїна.

Дослідження вірулентних властивостей бактерій *P. syringae*, що були ізольовані із сегетальної рослинності, показали як їхню вірулентність за штучної інокуляції щодо рослини-хазяїна, так і вірулентність для рослин пшениці, у посівах якої здійснювали відбір бур'янів. Ізоляти бактерій із бур'янів характеризуються різною агресивністю щодо пшениці (табл. 2).

Лише три із досліджених ізолятів бактерій не уражували рослини пшениці (5636, 564а, 916а). Переважна більшість ізолятів із бур'янів характеризувалася нижчою агресивністю щодо пшениці порівняно із агресивністю до рослини, з якої було виділено ізолят. Лише один ізолят із хвощу польового (6896) був більш агресивним щодо пшениці. Необхідно зазначити, що за штучного зараження пшениці у фазі виходу у трубку розвивалися симптоми, які характерні для збудника базального бактеріозу пшениці.

Таким чином, із бур'янів, що росли в посівах пшениці, ізольовано вірулентні для рослини-хазяїна і пшениці бактерії, які за морфолого-фізіологічними і біохімічними ознаками належать до виду *P. syringae*. Оскільки приналежність фітопатогенних бактерій виду *P. syringae* до певного патовару встановлюється з урахуванням рослини-хазяїна, визначення ідентичності виділених із бур'янів штамів *P. syringae* зі збудником базального бактеріозу пшениці потребує проведення більшого обсягу серологічних, біохімічних і молекулярно-біологічних досліджень.

Нами проаналізовано серологічні характеристики штамів *P. syringae* pv. *atofaciens*, ізольованих із агрофітоценозу пшениці за різних систем землеробства, і штамів *P. syringae*, ізольованих із бур'янів у посівах

Таблиця 2. Вірулентні властивості ізолятів виду *Pseudomonas syringae*, виділених із бур'янів у посівах пшениці

Номер ізоляту	Агресивність щодо, бал		Індукція РНЧ на тютюні	Рослина, з якої виділено ізолят	
	рослини-хазяїна	рослини пшениці			
508в	3,8	2,3	+	Берізка польова	
560а	4,1	3,0	+		
560в	2,3	2,3	+		
562	2,3	2,0	+		
563а	2,7	1,0	+		
563б	3,3	0	+		
564а	4,0	0	+		
643д	4,0	3,3	+		
886б	4,8	2,8	+		
888в	3,6	2,6	+		
906а	2,7	1,0	+		
915а	3,8	2,5	+		
913б	2,5	0,5	+		
632б	4,0	1,5	+		
573а	3,5	1,0	+		
566б	3,0	1,0	+		
916а	3,3	0	+		
662г	4,1	0,3		Осот польовий	
663б	4,3	2,7	+		
670с	2,5	1,0	+		
587а	3,5	1,3	+	Пирій повзучий	
646а	3,7	2,0	+		
682а	4,3	1,5	+	Підмаренник чіпкий	
684б	2,5	2,3	+		
687а	3,0	1,5	+		
650а	3,0	2,0	+	Плоскуха звичайна	
650б	3,0	1,8	+		
754б	4,0	4,0	+		
754в	3,8	3,3	+		
536а	3,0	2,1	+		
515в	4,7	4,6	+		
516а	5,0	2,0	+		
689б	2,5	4,1	+		
					Редька дика Хвощ польовий

пшениці. На основі отриманих результатів найбільшу кількість штамів *P. syringae* pv. *atrofaciens* (48 %), ізольованих із ураженої пшениці, вирощеної за інтенсивної системи землеробства, віднесено до серогрупи IV, меншу (37 %) – до серогрупи II (рис. 1).

Бактерії, що ізольовані із пшениці, вирощеної за органічної системи землеробства, розподілено на чотири серогрупи (II, IV, V, VI) (рис. 1). Найбільшу кількість штамів віднесено до серогрупи IV (52,4 %), меншу – до серогрупи VI (23,8 %), штами серогруп II і V складають 14,3 % і 9,5 % відповідно.

Аналізуючи характер і ступінь вираженості антигенної спорідненості в реакції подвійної дифузії в агарі, 30 штамів *P. syringae* із бур'янів роз-

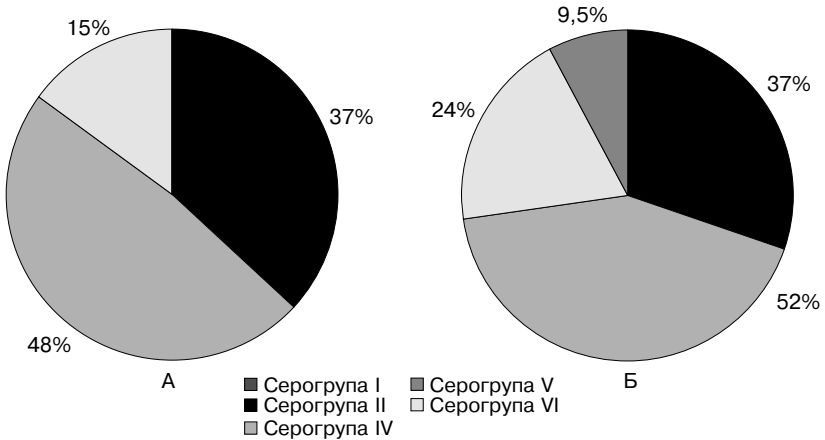


Рис. 1. Розподіл за серологічною приналежністю штамів *P. syringae* pv. *atrofaciens*, ізольованих із пшениці, вирощеної за інтенсивної (А) і органічної (Б) систем землеробства

поділили на п'ять серологічних груп (I, II, IV, V, VI) (рис. 2). Два штами не ввійшло до жодної з відомих серогруп, можливо вони належать до інших серологічних груп.

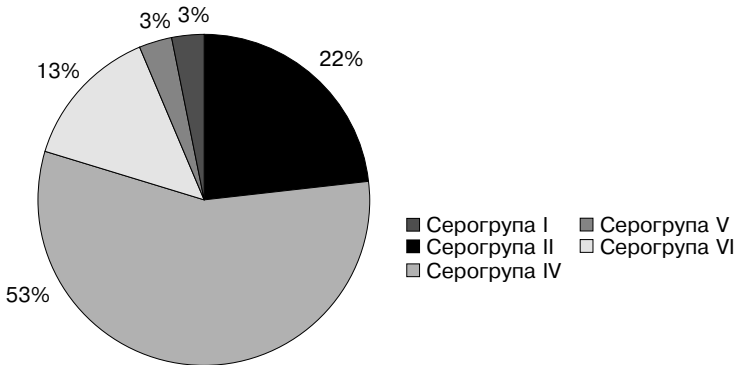


Рис. 2. Розподіл за серологічною приналежністю штамів *P. syringae*, ізольованих із бур'янів у агрофітоценозі пшениці

Більшість штамів, виділених як із пшениці, так і з бур'янів, належать до серогрупи IV. Штами патогенних бактерій *P. syringae*, що належать до I серогрупи, в агрофітоценозі пшениці виявлено вперше.

За використання праймеру ОРА-13 для ампліфікації ДНК штамів *P. syringae* pv. *atrofaciens* отримано спектри ампліфікованих фрагмен-

тів, що були подібними для всіх досліджених нами штамів. Діапазон поліморфних локусів становив від 500 до 1300 т.п.н. Результати аналізу спектрів продуктів ампліфікації ДНК *P. syringae* pv. *atrofaciens* із праймером ОРА-13 дають підстави до висновку, що досліджувані нами штами *P. syringae* pv. *atrofaciens* є генетично однорідною групою.

За результатами RAPD-ПЛР аналізу із праймером ОРА-13 штами *P. syringae*, що виділені із сеgetальної рослинності агрофітоценозу пшениці, розподілено на дві групи. Сім штамів (515в, 536а, 560а, 562, 566б, 650в, 684б) мали високий ступінь спорідненості з неопатотиповим штамом *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011. Три штами *P. syringae* (516а, 622г, 650б), що були ізольовані із бур'янів, виявилися високоспорідненими з типовим штамом *P. syringae* pv. *syringae* УКМ В-1027. Отже, більшість штамів, які було ізольовано із бур'янів, мали високий ступінь спорідненості зі збудником базального бактеріозу пшениці *P. syringae* pv. *atrofaciens*, що є найбільш поширеним на зернових культурах.

Отже, на основі RAPD-ПЛР аналізу можна стверджувати, що популяція *P. syringae* pv. *atrofaciens* є генетично однорідною. А штами *P. syringae*, виділені із сеgetальної рослинності агрофітоценозу пшениці, є близькоспорідненими зі збудником базального бактеріозу зернових культур *P. syringae* pv. *atrofaciens* і *P. syringae* pv. *syringae*.

Ми застосували метод ДСН-ПААГ електрофорезу білків цілих клітин бактерій для встановлення таксономічного положення штамів *P. syringae*, які було виділено із сеgetальної рослинності агрофітоценозу пшениці та які мали спорідненість зі збудником базального бактеріозу пшениці *P. syringae* pv. *atrofaciens*. Незважаючи на високий ступінь гомології штамів *P. syringae*, які ізолювали із бур'янів у посівах пшениці, зі штамми, які ізолювали із рослини-хазяїна пшениці, за морфолого-культуральними, фізіолого-біохімічними, серологічними ознаками питання приналежності ізольованих із бур'янів штамів *P. syringae* до певного патовару цього виду було дискусійним.

Штами 684б, 662г, 650а, 560а, 646а *P. syringae*, які ізольовано нами із бур'янів у посівах пшениці, мали ідентичні між собою ДСН-ПААГ профілі білків цілих клітин і містили білки з молекулярною масою від 98 до 17 кДа (рис. 3).

Домінуючими були білки з молекулярною масою 45 кДа і 30 кДа. Окрім ідентичності між собою, ці білкові профілі були ідентичними до білкових профілів неопатотипового штаму *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011 і штамів збудника базального бактеріозу, ізольованих із уражених рослин пшениці в Україні.

Відмінності від більшості ізольованих із бур'янів штамів у ДСН-ПААГ профілях білків мали штам *P. syringae* 516а, який на основі попереднього

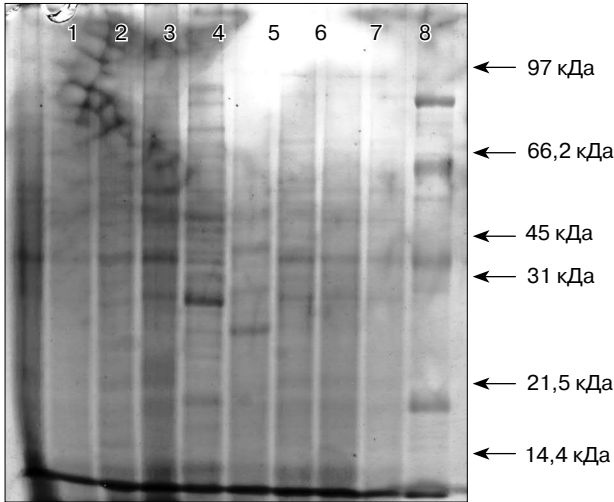


Рис. 3. ДСН-ПААГ електрофорез білків цілих клітин штамів *Pseudomonas syringae*, ізольованих із бур'янів у посівах пшениці: 1 – *P. syringae* 684б; 2 – *P. syringae* 662г; 3 – *P. syringae* 650а; 4 – *P. syringae* 562; 5 – *P. syringae* 516а; 6 – *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011; 7 – *P. syringae* 560а; 8 – *P. syringae* 646а; 9 – маркери молекулярної маси

RAPD-ПЛР аналізу із праймером ОРА-13 було віднесено до групи, високоспорідненої з типовим штамом *P. syringae* pv. *syringae* УКМ В-1027, і штам *P. syringae* 562, який хоча і був віднесений до високоспорідненої з *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011 групи на основі даних RAPD-ПЛР, але характеризувався слабкою реакцією аглютинації із антисироваткою до серогрупи IV. Узагальнюючи дані дослідження серологічних властивостей, RAPD-ПЛР аналізу із праймером ОРА-13 і вивчення ДСН-ПААГ профілів білків, можна стверджувати, що штами, виділені нами із уражених бактеріозами бур'янів у агрофітоценозі пшениці, належать до *P. syringae* pv. *atrofaciens*.

Отже, вперше із уражених бур'янів у посівах пшениці нами виділено штами збудника базального бактеріозу. Отримані дані підтверджують статус сегетальної рослинності як резерватора збудників бактеріозів культурних рослин.

Висновки. Домінуючим збудником базального бактеріозу пшениці в Україні є *P. syringae* pv. *atrofaciens*, який уражує цю культуру як за інтенсивної, так і органічної технології вирощування. Високоагресивні штами збудника базального бактеріозу було ізольовано в усіх обстежених областях (Київській, Полтавській, Чернігівській). Вперше із бур'янів, що росли в посівах пшениці, було ізольовано вірулентні для рослини-хазяїна і рослини пшениці бактерії *P. syringae* pv. *atrofaciens*.

Список використаних джерел

1. The Bacterial Diseases of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management / Eds. Duveiller E., Fucikovskiy L., Rudolph K. Mexico, D.F.: CIMMYT, 1997. 200 p.
2. Valencia-Botín A. J., Cisneros-López M. E. A review of the studies and interactions of *Pseudomonas syringae* pathovars on wheat. *International Journal of Agronomy*. 2012. Vol. 2012. Article ID 692350, 5 p. URL: <http://dx.doi.org/10.1155/2012/692350>
3. Abd-Allah A. R. A. Alpha-lipoic acid counteracts the promoted oxidative DNA damage in the liver of septic rats. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2006. Vol. 14, No. 2. P. 89–99.
4. Maraitte H., Bragard C., Duveiller E. The status of resistance to bacterial diseases of wheat. *Wheat Production in Stressed Environments* : proceedings of the 7th International Wheat Conference, November 27–December 2, 2007, Mar del Plata, Argentina. P. 37–50.
5. Пасичник Л. А., Патыка В. Ф., Ходос С. Ф., Винничук Т. С. Базальный бактериоз пшеницы и влияние агротехнических приемов на его распространение. *Мікробіологічний журнал*. 2012. Т. 74, № 4. С. 37–44.
6. Matveeva Ye. V., Pekhtereva E. Sh., Polityko V. A., Ignatov A. N., Nikolaeva E. V., Schaad N. W. Distribution and virulence of *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*, causal agent of basal glume rot, in Russia. *Pseudomonas syringae pathovars and related pathogens* : proceedings of the 6th International Conference. (Maratea, Italy, September 15–19, 2002). Dordrecht ; Boston : Kluwer Academic Publishers, 2003. P. 97–105.
7. Vassilev V., Kolev K., Zaharieva M., Sevov V. Resistance of *Aegilops*, maize and wheat genotypes to *Pseudomonas syringae* pathovars *atrofaciens* and *syringae*. *Agronomie*. 1995. Vol. 15, No. 1. P. 25–29. doi: 10.1051/agro:19950103
8. Al-Sallami F., Karov S. P., Vassileva P., Popova R., Vassilev V. *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* associated with fungal black point of wheat (*Triticum aestivum* L.) grain. *Developments in Plant Pathology. Vol. 9 : Pseudomonas Syringae Pathovars and Related Pathogens* / ed. by K. Rudolph, T. J. Burr, J. W. Mansfield, D. Stead, A. Vivian, J. von Kietzell. Dordrecht : Springer, 1997. P. 505–509.
9. Bazzi C., Stead D. E., Alexandrova M., Stefani E. Identification and classification of fluorescent *Pseudomonas* species from cereals in Italy. *Developments in Plant Pathology. Vol. 9 : Pseudomonas Syringae Pathovars and Related Pathogens* / ed. by K. Rudolph, T. J. Burr, J. W. Mansfield, D. Stead, A. Vivian, J. von Kietzell. Dordrecht : Springer, 1997. P. 509–514.
10. Toben H., Mavridis A., Rudolph K. W. E. Basal glume rot (*Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*) on wheat and barley in FRG and resistance screening of wheat. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. 1989. Vol. 19, Iss. 1. P. 119–125. doi: 10.1111/j.1365-2338.1989.tb00137.x
11. Wilkie J. P. Basal glume rot of wheat in New Zealand. *New Zealand Journal of Agricultural Research*. 1973. Vol. 16, Iss. 1. P. 155–160. doi: 10.1080/00288233.1973.10421176
12. Kazempour M. N., Kheyrgoo M., Pedramfar H., Rahimian H. Isolation and identification of bacterial glum blotch and leaf blight on wheat (*Triticum aestivum* L.) in Iran. *African Journal of Biotechnology*. 2010. Vol. 9, No. 20. P. 2866–2871. doi: 10.5897/AJB2010.000-3113
13. Otta J. D. *Pseudomonas syringae* incites a leaf necrosis on spring and winter wheats in South Dakota. *Plant Disease Reporter*. 1974. Vol. 58, No. 12. P. 1061–1064.
14. Mavridis A., Meyer D., Mielke H., Steinkampf G. Zum Auftreten und zur Schädigung der basalen Spelzenfäule beim Sommerweizen. *Kali-Briefe (Büntehof)*. 1991. Vol. 20. P. 469–473.
15. Котляров В. В. Бактериальные болезни культурных растений. Краснодар : КубГАУ, 2008. 324 с.
16. Лазарев А. М. *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* (McCulloch) Young, Dye & Wilkie – Базальный бактериоз пшеницы. *Агроэкологический атлас России и сопредельных стран: экономически значимые растения, их вредители, болезни*

- и сорные растения [DVD-версия] / под. ред. Афолина А. Н., Грина С. Л., Дзюбенко Н. И., Фролова А. Н. 2008. URL: http://www.agroatlas.ru/en/content/related/Lonicera_edulis/
17. Tarkowski P., Vereecke D. Threats and opportunities of plant pathogenic bacteria. *Biotechnology Advances*. 2014. Vol. 32. P. 215–229. doi: 10.1016/j.biotechadv.2013.11.001
 18. Hirano S. S., Upper C. D. Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae* – a pathogen, ice nucleus, and epiphyte. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2000. Vol. 64, No. 3. P. 624–653. doi: 10.1128/MMBR.64.3.624-653.2000
 19. Methods in Phytobacteriology / Eds. Z. Klement, K. Rudolf, D. C. Sands. Budapest : Academiai Kiado, 1990. 568 p.
 20. Патики В. П., Пасичник Л. А., Данкевич Л. А., Мороз С. М., Буценко Л. М., Житкевич Н. В. та ін. Діагностика фітопатогенних бактерій. Методичні рекомендації / за ред. В. П. Патики. Київ : [б. в.], 2014. 76 с.
 21. Пастушенко Л. Т., Симонович И. Д. Серологические группы фитопатогенных бактерий рода *Pseudomonas*. I. Антигенное родство внутри видов. *Мікробіологічний журнал*. 1979. Т. 41, № 3. С. 222–228.
 22. Пастушенко Л. Т., Симонович И. Д. Серологические группы фитопатогенных бактерий рода *Pseudomonas*. II. Антигенное родство разных видов. *Мікробіологічний журнал*. 1979. Т. 41, № 4. С. 330–339.
 23. Vancanneyt M., Torck U., Dewettinck D., Vaerewijck M., Kersters K. Grouping of *Pseudomonads* by SDS-PAGE of whole-cell proteins. *Systematic and Applied Microbiology*. 1996. Vol. 19, Iss. 4. P. 556–568. doi: 10.1016/S0723-2020(96)80027-0
 24. Olive D. M., Bean P. Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. *Journal of Clinical Microbiology*. 1999. Vol. 37, Iss. 6. P. 1661–1669.
 25. Welsh J., McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*. 1990. Vol. 18, Iss. 24. P. 7213–7218. doi: 10.1093/nar/18.24.7213
 26. Momol M. T., Momol E. A., Lamboy W. F., Norelli J. L., Beer S. V., Aldwinckle H. S. Characterization of *Erwinia amylovora* strains using random amplified polymorphic DNA fragments (RAPDs). *Journal of Applied Microbiology*. 1997. Vol. 82, Iss. 3. P. 389–398. doi: 10.1046/j.1365-2672.1997.00377.x
 27. Shane W. W., Baumer J. S. Population dynamic of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* on spring wheat. *Phytopathology*. 1987. Vol. 77. No. 10. P. 1399–1405.
 28. Taghavi S. M., Keshavarz K. Identification of the causal agent of bacterial wheat blight in Fars and Kohgiluyeh & Boyer-Ahmad provinces and the reaction of certain wheat cultivars to them. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*. 2003. Vol. 6. P. 171–180.
 29. Гвоздяк Р. И., Яковлева Л. М., Пасичник Л. А., Щербина Т. М., Огородник Л. Е. Бактерии рода *Pseudomonas* на сорняках. *Мікробіологічний журнал*. 2005. Т. 67, № 2. С. 63–69.
 30. Гвоздяк Р. И., Яковлева Л. М. *Pantoea agglomerans* – возбудитель болезней пырея ползучего (*Elytrigia repens*) и райграса высокого (*Arrhenatherum elatius*). *Мікробіологічний журнал*. 2007. Т. 69, № 1. С. 61–67.

References

1. Duveiller, E., Fucikovsky, L., & Rudolph, K. (Eds.). (1997). *The Bacterial Diseases of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management*. Mexico, D.F.: CIMMYT.
2. Valencia-Botín, A. J., & Cisneros-López, M. E. (2012). A review of the studies and interactions of *Pseudomonas syringae* pathovars on wheat. *Int. J. Agron*. Article ID 692350, 5 p. Retrieved from <https://doi.org/10.1155/2012/692350>
3. Abd-Allah, A. R. A. (2006). Alpha-lipoic acid counteracts the promoted oxidative DNA damage in the liver of septic rats. *Saudi Pharm. J.*, 14(2), 89–99.
4. Maraite, H., Bragard, C., & Duveiller, E. (2007). The status of resistance to bacterial diseases of wheat. In *Wheat Production in Stressed Environments: proceedings of the*

- 7th International Wheat Conference (pp. 37–50). November 27–December 2, 2007, Mar del Plata, Argentina.
5. Pasichnyk, L. A., Patyka, V. P., Khodos, S. F., & Vinnichuk, T. S. (2012). Basal bacteriosis of wheat and influence of agrotechnical methods on its spread. *Microbiological Journal*, 74(4), 37–44. [in Russian]
 6. Matveeva, Ye. V., Pekhtereva, E. Sh., Polityko, V. A., Ignatov, A. N., Nikolaeva, E. V., & Schaad, N. W. (2003). Distribution and virulence of *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*, causal agent of basal glume rot, in Russia. *Pseudomonas syringae pathovars and related pathogens*: Proc. 6th Int. Conf. (pp. 97–105). September 15–19, 2002, Maratea, Italy.
 7. Vassilev, V., Kolev, K., Zaharieva, M., & Sevov, V. (1995). Resistance of *Aegilops*, maize and wheat genotypes to *Pseudomonas syringae* pathovars *atrofaciens* and *syringae*. *Agronomie*, 15(1), 25–29. doi: 10.1051/agro:19950103
 8. Al-Sallami, F., Karov, S. P., Vassileva, P., Popova, R., & Vassilev, V. (1997) *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* associated with fungal black point of wheat (*Triticum aestivum* L.) grain. In K. Rudolph, T. J. Burr, J. W. Mansfield, D. Stead, A. Vivian, & J. von Kietzell (Eds.) *Developments in Plant Pathology (Vol. 9: Pseudomonas Syringae Pathovars and Related Pathogens)* (pp. 505–509). Dordrecht: Springer.
 9. Bazzi, C., Stead, D. E., Alexandrova, M., & Stefani, E. (1997). Identification and classification of fluorescent *Pseudomonas* species from cereals in Italy. In K. Rudolph, T. J. Burr, J. W. Mansfield, D. Stead, A. Vivian, & J. von Kietzell (Eds.). *Developments in Plant Pathology (Vol. 9: Pseudomonas Syringae Pathovars and Related Pathogens)* (pp. 509–514). Dordrecht: Springer.
 10. Toben, H., Mavridis, A., & Rudolph, K. W. E. (1989). Basal glume rot (*Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*) on wheat and barley in FRG and resistance screening of wheat. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 19(1), 119–125. doi: 10.1111/j.1365-2338.1989.tb00137.x
 11. Wilkie, J. P. (1973). Basal glume rot of wheat in New Zealand. *N. Z. J. Agric. Res.*, 16(1), 155–160. doi: 10.1080/00288233.1973.10421176
 12. Kazempour, M. N., Kheyrgoo, M., Pedramfar, H., & Rahimian, H. (2010). Isolation and identification of bacterial glum blotch and leaf blight on wheat (*Triticum aestivum* L.) in Iran. *Afr. J. Biotechnol.*, 9(20), 2866–2871. doi: 10.5897/AJB2010.000-3113
 13. Otta, J. D. (1974). *Pseudomonas syringae* incites a leaf necrosis on spring and winter wheats in South Dakota. *Plant Dis. Rep.*, 58(12), 1061–1064.
 14. Mavridis, A., Meyer, D., Mielke, H., & Steinkampf, G. (1991). Zum Auftreten und zur Schadwirkung der basalen Spelzenfäule beim Sommerweizen. *Kali-Briefe (Büntehof)*, 20, 469–473.
 15. Kotlyarov, V. V. (2008). Bacterial Diseases of Cultivated Plants. Krasnodar: KubGAU. [in Russian]
 16. Lazarev, A. M. (2008). *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* (McCulloch) Young, Dye & Wilkie – Basal bacteriosis of wheat. In: Afonin, A. N., Grin, S. L., Dzyubenko, N. I., & Frolov, A. N. (Eds.) *Agroecological Atlas of Russia and Neighboring Countries: Economically Significant Plants, Their Pests, Diseases and Weeds*. Retrieved from http://www.agroatlas.ru/en/content/related/Lonicera_edulis/ [in Russian]
 17. Tarkowski, P., & Vereecke, D. (2014). Threats and opportunities of plant pathogenic bacteria. *Biotechnol. Adv.*, 32, 215–229. doi: 10.1016/j.biotechadv.2013.11.001
 18. Hirano, S. S., & Upper, C. D. (2000). Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae* – a pathogen, ice nucleus, and epiphyte. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 64(3), 624–653. doi: 10.1128/MMBR.64.3.624-653.2000
 19. Klement, Z., Rudolf, K., & Sands, D. (Eds.). (1990). *Methods in Phytobacteriology*. Budapest: Akademiai Kiado.
 20. Patyka, V. P., Pasichnyk, L. A., Dankevych, L. A., Moroz, S. M., Butsenko, L. M., Zhytkevych, N. V. et al. (2014). Diagnosis of Pathogenic Bacteria: Methodical Recommendations. V. P. Patyka (Ed.). Kyiv: N.p. [in Ukrainian]

21. Pastushenko, L. T., & Simonovich, I. D. (1979). Serological groups of phytopathogenic bacteria of the genus *Pseudomonas*. I. Antigenic affinity within species. *Microbiological Journal*, 41(3), 222–228. [in Russian]
22. Pastushenko, L. T., & Simonovich, I. D. (1979). Serological groups of phytopathogenic bacteria of the genus *Pseudomonas*. II. Antigenic affinity of different species. *Microbiological Journal*, 41(4), 330–339. [in Russian]
23. Vancanneyt, M., Torck, U., Dewettinck, D., Vaerewijck, M., & Kersters, K. (1996). Grouping of *Pseudomonads* by SDS-PAGE of whole-cell proteins. *Syst. Appl. Microbiol.*, 19(4), 556–568. doi: 10.1016/S0723-2020(96)80027-0
24. Olive, D. M., & Bean, P. (1999). Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. *J. Clin. Microbiol.*, 37(6), 1661–1669.
25. Welsh, J., & McClelland, M. (1990). Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucl. Acids Res.*, 18(24), 7213–7218. doi: 10.1093/nar/18.24.7213
26. Momol, M. T., Momol, E. A., Lamboy, W. F., Norelli, J. L., Beer, S. V., & Aldwinckle, H. S. (1997). Characterization of *Erwinia amylovora* strains using random amplified polymorphic DNA fragments (RAPDs). *J. Appl. Microbiol.*, 82(3), 389–398. doi: 10.1046/j.1365-2672.1997.00377.x
27. Shane, W. W., & Baumer, J. S. (1987). Population dynamic of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* on spring wheat. *Phytopathology*, 77(10), 1399–1405.
28. Taghavi, S. M., & Keshavarz, K. (2003). Identification of the causal agent of bacterial wheat blight in Fars and Kohgiluyeh & Boyer-Ahmad provinces and the reaction of certain wheat cultivars to them. *J. Sci. Tech. Agr. Nat. Res.*, 6, 171–180.
29. Gvozdyak, R. I., Yakovleva, L. M., Pasichnik, L. A., Shcherbina, T. M., & Ogorodnik, L. E. (2005). Bacteria of the genus *Pseudomonas* on weeds. *Microbiological Journal*, 67(2), 63–69. [in Russian]
30. Gvozdyak, R. I., & Yakovleva, L. M. (2007). *Pantoea agglomerans* – causative agent of wheatgrass (*Elytrigia repens*) and ryegrass (*Arrhenatherum elatius*). *Microbiological Journal*, 69(1), 61–67. [in Russian]

Возбудитель базального бактериоза в агрофитоценозе пшеницы

Буценко Л. Н.¹, кандидат биологических наук

Пасичник Л. А.¹, доктор биологических наук

Коломиец Ю. В.², доктор сельскохозяйственных наук

Дубянская С. А.³

¹Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины
Украина, 03134, г. Киев, ул. Академика Заболотного, 154

²Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины
Украина, 03041, г. Киев, ул. Героев Оборона, 15

³Национальный университет пищевых технологий
Украина, 01033, г. Киев, ул. Владимирская, 68
e-mail: plant_path@ukr.net

Цель. Выявить возбудителя базального бактериоза пшеницы *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* на растении-хозяине и сегетальной растительности в агрофитоценозе пшеницы при интенсивной и органической системах ее выращивания и определить его вредоносность. **Методы.** Изолирование *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* (McCulloch 1920) Young, Dye & Wilkie 1978 из растений пшеницы и сегетальных растений в ее посевах проводили в 2012–2016 гг. в трех областях Украины (Киевской, Полтавской и Черниговской). Для изучения свойств бактерий использовали морфолого-культуральные, физиолого-биохимические, серологические

и молекулярно-биологические методы. Антигенные свойства штаммов бактерий *P. syringae* изучали по реакциям агглютинации и преципитации, патогенные свойства исследовали путем искусственного заражения растений пшеницы в фазе выхода в трубку. Для определения гетерогенности популяции возбудителя базального бактериоза и идентификации бактерий использовали RAPD-ПЦР и электрофорез белков внешней мембраны бактерий. **Результаты.** На всех обследованных полях в Киевской, Полтавской, Черниговской областях обнаружили растения пшеницы с характерными для базального бактериоза поражениями. По патогенным, морфологическим, культуральным, физиолого-биохимическим свойствам выделенные из растений пшеницы изоляты идентифицированы как *P. syringae* pv. *atrofaciens*. Изолированные с пораженных растений пшеницы штаммы *P. syringae* pv. *atrofaciens* были вирулентными, 80 % изолятов характеризовались высокой и средней агрессивностью к растению-хозяину. Из сорняков, растущих в посевах пшеницы, были изолированы вирулентные для растения-хозяина и растения пшеницы бактерии, которые по морфолого-физиологическим и биохимическим признакам принадлежат к виду *P. syringae*. По данным серологических свойств, RAPD-ПЦР анализа с праймером OPA-13 и ДСН-ПААГ профилей белков можно утверждать, что штаммы, выделенные нами из пораженных бактериозом сорняков в агрофитоценозах пшеницы, относятся к *P. syringae* pv. *atrofaciens*. **Выводы.** Доминирующим возбудителем базального бактериоза пшеницы в Украине является *P. syringae* pv. *atrofaciens*, который поражает эту культуру как при интенсивной, так и органической технологиях выращивания. Впервые из сорняков, растущих в посевах пшеницы, были изолированы вирулентные для растения-хозяина и растения пшеницы бактерии *P. syringae* pv. *atrofaciens*.

Ключевые слова: *P. syringae* pv. *atrofaciens*, распространение, пшеница, сорняки

The causative agent of basal bacteriosis in wheat agrophytocenosis

Butsenko L. M.¹, Candidate of Biological Sciences

Pasichnyk L. A.¹, Doctor of Biological Sciences

Kolomiets Yu. V.², Doctor of Agricultural Sciences

Dubianska S. A.³

¹*D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NASU
154, Acad. Zabolotny St., Kyiv, 03134, Ukraine*

²*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
15, Heroiv Oborony St., Kyiv, 03041, Ukraine*

³*National University of Food Technologies
68, Volodymyrska St., Kyiv, 01033, Ukraine
e-mail: plant_path@ukr.net*

Purpose. To identify the causative agent of basal bacteriosis of wheat *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* on host plant and segetal flora in wheat agrophytocenosis under intensive and organic systems of cultivation and to determine its harmfulness. **Methods.** Isolation of *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* (McCulloch 1920) Young, Dye & Wilkie 1978 from wheat and segetal plants in wheat crops was carried out in three regions of Ukraine (Kyiv, Poltava and Chernihiv). To study the properties of the bacteria, morphological, cultural, physiological, biochemical, serological, and molecular biological methods were used. Antigenic properties of the *P. syringae* bacterial strains were studied with agglutination and precipitation reactions, and pathogenic properties were studied by artificially infecting wheat plants during booting phase. Determination of heterogeneity in population of basal bacteriosis pathogen and identification of bacteria was carried out using RAPD-PCR and electrophoresis of the bacteria outer membrane proteins. **Results.** In all the fields surveyed

in Kyiv, Poltava, and Chernihiv regions of Ukraine, wheat plants with lesions characteristic of basal bacteriosis were found. By pathogenic, morphological, cultural, physiological and biochemical properties, isolates from wheat plants were identified as *P. syringae* pv. *atrofaciens*. Isolated from affected wheat plants strains of *P. syringae* pv. *atrofaciens* were virulent, 80 % of isolates were characterized by high and medium aggressiveness towards the host plant. From the weeds in wheat crops virulent bacteria for the host plant and wheat were isolated, which by morphological, physiological, and biochemical characteristics belong to the species *P. syringae*. According to the serological properties, RAPD-PCR analysis with the OPA-13 primer and SDS-PAGE of protein profiles, it can be stated that the strains we isolated from weeds affected with bacterioses in wheat agrophytocenosis belong to *P. syringae* pv. *atrofaciens*. **Conclusions.** *P. syringae* pv. *atrofaciens* is the dominant pathogen of wheat basal bacteriosis in Ukraine which affects this crop in both the intensive and the organic crop management system. For the first time, from weeds grown in wheat crops there were isolated virulent for the host plants and the wheat plants bacteria *P. syringae* pv. *atrofaciens*.

Key words: *P. syringae* pv. *atrofaciens*, propagation of the pathogen, wheat, weeds