

ЕУТИПОЗ І БАКТЕРІАЛЬНИЙ НЕКРОЗ

виноградної лози на виноградних насадженнях Одеської області

Мета. Встановити наявність бактеріального некрозу та еутипозу виноградної лози, ідентифікувати збудників цих хвороб на виноградниках в Одеській області. **Методи.** Обстеження виноградних насаджень на наявність симптомів бактеріального некрозу та еутипозу винограду. Для ідентифікації збудника бактеріального некрозу *Xylophilus ampelinus* використовували серологічний метод імуноферментного аналізу (ІФА), для еутипозу, збудником якого є *Eutypa lata*, — молекулярно-біологічний метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з гелі-електрофоретичною детекцією. **Результати.** За фітосанітарного обстеження виноградних насаджень різних господарств в Одеській області виявили кущі виноградних рослин з характерними симптомами бактеріального некрозу та еутипозу — пригнічений зріст пагонів, невеликі розміри грон або їхня відсутність, на поперечному зрізі рукавів і штампів видно клиноподібні ділянки, пофарбовані у світло-коричневий колір, хлороз листя. Ідентифіковано збудників бактеріального некрозу та еутипозу винограду. **Висновки.** За фітосанітарного обстеження виноградних насаджень Одеської області виявлено кущі винограду із симптомами бактеріального некрозу та еутипозу. Встановлено невеликий відсоток ураження виноградних кущів збудником бактеріального некрозу та значне ураження збудником еутипозу. Методом ПЛР з гелі-електрофоретичною детекцією встановлено, що виноградні рослини уражені збудником еутипозу. Методом ІФА ідентифіковано збудника бактеріального некрозу.

фітосанітарне обстеження; ПЛР; ІФА; бактеріальний некроз винограду; *Xylophilus ampelinus*;

І.А. КОВАЛЬОВА,
доктор сільськогосподарських наук

Л.О. КОНУП,
доктор сільськогосподарських наук

Н.І. НИКОЛАЄВА,
науковий співробітник

А.І. КОНУП,
кандидат біологічних наук

В.Л. ЧИСТЯКОВА,
старший науковий співробітник
Національний науковий центр
«Інститут виноградарства
і виноробства ім. В.Є. Таїрова» НААН
України,
40-річчя Перемоги, 27, м. Одеса,
65496, Україна
e-mail: lkmicrobiol@ukr.net

***ampelinus*; еутипоз; *Eutypa lata*;
виноград**

Європейський Союз займає провідне місце на міжнародному ринку вина: на його частку припадає 45% світових насаджень винограду, 60% виробництва та споживання вина у світі. Вхідження України до єдиного економічного простору вимагає від галузі виноградарства і виноробства покращення якості й конкурентоспроможності продукції. Постійний економічний збиток, якого завдають грибні і бактеріальні хвороби винограду, може досягати 50—80%.

Основними методами діагностики хвороб винограду є система сертифікованого розсадництва в Україні (ідентифікація бактеріальних, грибних, вірусних і фітоплазмових хвороб) та система контролю якості продуктів харчування і біобезпека.

Основні параметри якості винограду визначаються багатьма показниками, у тому числі агрокліматичними умовами вирощу-

вання, сортами й відсутністю захворювань. Серед хвороб, що уражують виноград, особливе місце посідають бактеріальні й грибні хвороби, які завдають серйозної шкоди виноградарству України. Грибні хвороби багаторічної деревини винограду нарівні із вірусними й бактеріальними належать до сфери санітарного контролю під час виробництва сертифікованого садивного матеріалу.

Серед бактеріальних хвороб найбільшу загрозу для європейських та підщепних сортів становить бактеріальний некроз, збудником якого є бактерія *Xylophilus ampelinus* [1]. Потенційні втрати врожаю на кущах, уражених збудником бактеріального некрозу, можуть сягати 80% [2]. Симптоми на хворих кущах досить характерні, хоча можуть відрізнятися залежно від сорту винограду, агресивності штаму бактерії, кліматичних умов і агротехніки. Симптоми, які найчастіше спостерігаються на різних органах рослин, такі: уражені вічка ледве розпускаються, початок вегетації значно затримується, пагони рахитичні, часто засихають. Пагони біля основи мають видовжені плями темного або чорно-фіолетового кольору, які згодом перетворюються в глибокі виразки, що переходять на деревину. Рослина згинається до землі, набуваючи «плакучого» вигляду. Шкідливість цієї хвороби виявляється також у скороченні довговічності виноградників та швидкості її розповсюдження.

Бактеріальний некроз зареєстровано у країнах Європи та Азії: Греції, Іспанії, Італії, Португалії, Франції, Югославії, Туреччині, Афганістані, у Південній Африці. 1978 року у Молдові вогнище хвороби було зареєстро-

вано на сортах Ркацителі та Фетяска [3].

Іншою, не менше небезпечною хворобою, є еutipоз винограду — одне із найшкідливіших грибних захворювань. Уперше цю хворобу виявили в Австралії 1973 року і вона була основним грибним захворюванням винограду в цій країні [4, 5]. Еutipоз виявили і в Південній Африці. Нині це захворювання вражає великі площі виноградників в усьому світі, є причиною зниження довговічності насаджень [6]. За даними Steaser and Wicks в Австралії еutipоз знижує врожай винограду на 15—32% [4, 5].

Збудником еutipозу є гриб *Eutipa lata*, який розповсюджується у вологу, безвітряну погоду, коли аскоспори переносяться від рослини, що загинула, на uszkodжені рослини за механічної обробки чи від морозних уражень. Поширення інфекції відбувається зі зливовими дощами й краплинним зрошенням. Аскоспори спочатку уражують ксилему, а потім камбіальний шар і флоему штамбу й рукавів. Інкубаційний період триває зазвичай 3 роки або й більше, після чого на кущах з'являються симптоми захворювання. Характерними симптомами є: пригноблений ріст пагонів, невеликі розміри грон або їхня відсутність, на поперечному зрізі рукавів і штампів клиноподібні ділянки некрозів, їх форма й колір різняться. За формою некрози можуть бути кільцевими або секторальними, їхній колір варіює від відтінків коричневого до майже чорного, світло-коричневого. Листя має жовтий колір. Хворі кущі часто гинуть.

Природно-кліматичні умови півдня України сприятливі для адаптації збудників цих хвороб, тому ймовірність розповсюдження дуже висока. За симптомами хвороби дуже схожі, тому ідентифікація збудників дуже важлива.

Мета роботи — виявити бактеріальний некроз та еutipоз на виноградниках Одеської області, ідентифікувати збудники.

Завдання роботи — обстежити виноградні насадження в Одеській області на наявність симп-

томів бактеріального некрозу та еutipозу й ідентифікувати збудники цих хвороб.

Методика досліджень — фітосанітарне обстеження виноградних насаджень. Зразки виноградних рослин відбирали за зовнішніми симптомами: пригноблений ріст пагонів, хлороз, зміна забарвлення, відставання у рості, укорочення міжвузля. Відбір, зберігання і підготовку зразків рослин винограду проводили згідно зі стандартом ISO 16578:2013 [7]. Для ідентифікації *Eutipa lata* використовували класичну ПЛР, для ідентифікації *Xylophilus ampelinus* — ІФА.

Ізоляти, отримані з ураженої виноградної лози, вирощували впродовж 2—4 тижнів на картопляно-декстрозному агарі (PDA; 39 г/л, Biolab, Merck) при 22°C. Усі ізоляти зберігали при 4°C в стерильній воді та на агарі. Свіжий міцелій збирали шляхом зіскрібання з поверхні агару скальпелем і переносили у мікроцентрифужну пробірку, що містила буфер для екстракції (50 мМ Трис-НCl; рН 8,0; 150 мМ NaCl; 100 мМ ЕДТА; рН 8,0; 2% SDS). ДНК виділяли за методикою Лі та Тейлора (1990) [8]. ДНК ресуспендували в стерильній дистильованій воді. Для проведення ПЛР зразки ДНК розводили 1:10 або 1:50 у стерильній воді.

Для класичної ПЛР використовували праймери [9]: Lata 1 GAGCTACCCTGTAGCCCGCTG/ Lata 2-1 STATCCG GAGATAGGCTCCC, розмір продукту 302 п.н. Синтез праймерів здійснила на наше замовлення компанія «Fermentas, Литва». В якості позитивного контролю використано біологічний матеріал тест-наборів для ІФА, негативного контролю — дейонізована вода. Реакційна суміш обсягом 50 мкл містила: 50 пкмоль кожного з праймерів; 2 Од Тақ-полімерази (*Fermentas*, Литва); 2 мМ дезоксинуклеозидтрифосфатів (dNTP); 2 мкМ MgSO₄; 4 мкл 5X ПЛР буфера (500 m KCl, 100 m Tris-HCl, рН 9,0). Об'єм проби у реакції становив 5 мкл. Ампліфікування проводили в програмованому ДНК-

ампліфікаторі «Терцик» ТП4-ПЦР-01, що включало 35 циклів: денатурація — 94°C/30 сек., відпалювання праймерів — 53°C/30 сек., синтез гену — 72°C/60 сек., 1 цикл — елонгація, заключний — 94°C/30 сек., 56°C/45 сек., 72°C/10 хв [1, 11]. Ампліфікати виявляли методом електрофорезу в 1,5% агарозному гелі (ТВЕ-буфер, етидій бромід) впродовж 40 хв при силі електричного струму 60 мА. Використовували маркер довжини фрагментів ДНК 50-1000 п.н. (*Termo Scientific O'RangeRuler 50 bp DNA Ladder*). Гель візуалізували і фотографували за допомогою відеосистеми «Mintron» в ультрафіолетовому випромінюванні (довжина хвилі 312 нм).

Для ідентифікації *Xylophilus ampelinus* із метою перевірки чистоти культури та опису колоній екстракт виноградної лози висівали на чашку Петрі зі щільним глюкозо-пептонним середовищем PYGA (дріжджовий екстракт — 0,5%; бактопептон — 0,5%; глюкоза — 1%; агар — 2%; рН — 6,8—7,2) [12]. Бактерії із середовища вивчали під мікроскопом у мазках, зафарбованих за Грамом. Після опису морфології колоній найбільш типові з них виділяли на скошений картопляний або глюкозо-пептонний агар. Для ідентифікації виділених бактерій *Xylophilus ampelinus* використовували непрямий імуноферментний аналіз. Для виявлення *Xylophilus ampelinus* використовували комерційні діагностичні набори фірми «Loewe» (Німеччина) у лунки мікроплат фірми «Falcon» і «Dynatech Microelisa» (США) вносили виділені культури в покривному буфері по 200 мкл у двох повторах. Інкубували при +37°C впродовж двох годин. Між етапами проведення реакції мікроплати тричі промивали буфером, по 3 хв кожен, після чого в лунки мікроплат вносили антисироватку в різних розведеннях у кон'югатному буфері (1:256 — 1:4096) по 200 мкл у двох повторах та інкубували дві години при +37°C. У наступному етапі вносили в кожен лунку по 200 мкл антикролячого кон'югата

IgG (A-7778, Sigma, США) у кон'югатному буфері у розведенні 1:3000. Інкубували 2 години при +37 °С. На останньому етапі в кожну лунку вносили субстрат (п-нітрофенілфосфат) у субстратному буфері (0,7 мг/мл). Промивання мікроплат між етапами ІФА усуває залишок чергового доданого компонента. Інкубували 30–60 хв при +22 °С. Поява жовтого забарвлення у лунках мікроплат свідчила про наявність патогенних бактерій. Результати фіксували за допомогою спектрофотометра Dynatech (США) при довжині хвилі 406 нм. Позитивним контролем служив референтний штам *Xylophilus ampelinus* штаму 120-1 (Іспанія).

Результати досліджень та обговорення. За фітосанітарного обстеження промислових виноградних насаджень на початку літа в Одеській області були виявлені кущі винограду сортів Каберне Совіньйон і Мерло з симптомами еутипозу винограду (рис. 1) і бактеріального некрозу (рис. 2 а, б).

Характерними симптомами еутипозу є зміна забарвлення листя, пригнічений ріст пагонів, невеликі розміри грон або їхня відсутність (рис. 1).

Перші симптоми ураження бактеріальним некрозом на хворих кущах з'являлися вже на початку вегетації. Уражені вічка ледь розпускалися і початок вегетації значно затримувався. Утворювалися рахітичні пагони, які в багатьох випадках засихали (рис. 2 а). На зрізах виноградної лози спостерігали ділянки некрозу (рис. 2 б).

Симптоми еутипозу і бактеріального некрозу дуже схожі за своїми проявами. Тому для діагностики цих хвороб необхідно проводити лабораторні тестування. З кущів винограду, що мали характерні симптоми, матеріал відбирали для діагностики й ідентифікації збудників.

Для ідентифікації еутипозу винограду проводили ПЛР-діагностику.

В результаті проведення ПЛР з гель-електрофоретичною детекцією встановлено наявність збуд-



Рис. 1. Куш винограду сорту Каберне Совіньйон, уражений *Eutypa lata* (Одеська обл., 2019 р.)



а

б

Рис. 2. Виноград сорту Каберне Совіньйон (Одеська обл., 2020 р.): а — куш уражений *Xylophilus ampelinus*; б — зріз виноградної лози сорту Каберне Совіньйон, ураженої *Xylophilus ampelinus*

ника еутипозу в рослинах сортів: Каберне Совіньйон і Мерло (рис. 3).

Для тестування винограду на наявність збудника бактеріального некрозу *Xylophilus ampelinus* екстракт виноградної лози висівали на тверде глюкозо-пептонне середовище. Через 5–7 діб спостерігали вирослі колонії, які мали жовте забарвлення, розміром 1,0–1,5 мм. Труднощі виділення ізолятів збудника бактеріального некрозу були в тому, що *Xylophilus ampelinus* у зараженому рослинному матеріалі супроводжується іншими бактеріями, насамперед тими, які відносяться до родів *Pseudomonas* та *Erwinia*. Вони мають більш швидкий

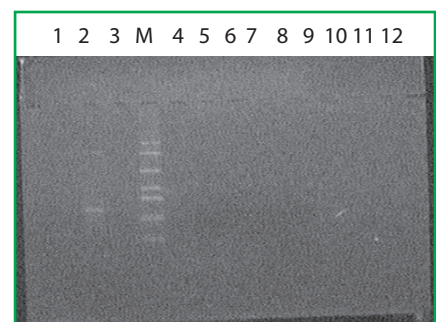


Рис. 3. Електрофореграма продуктів ампліфікації ПЛР *Eutypa lata*: 2 — зразки сорту Каберне Совіньйон, уражені *Eutypa lata*; маркер довжини фрагментів ДНК 50–1000 п.н. (Termo Scientific O'RangeRuler 50 bp DNA Ladder)

ріст (24 год) на твердому поживному середовищі, можуть швидко покривати *Xylophilus ampelinus* на глюкозо-пептонному агарі і бактерія взагалі не виявляється. Тому доводилося проводити кілька пасажів колоній, щоб отримати чисту культуру, характерну для *Xylophilus ampelinus*, потім пересівали в пробірки зі скошеним картопляним чи глюкозо-пептонним агаром. Для ідентифікації виділених бактерій роду *Xylophilus* вивчали їхні морфологічні та біохімічні характеристики, тинкторіальні особливості, процеси обміну (табл. 1).

Незалежно від сорту винограду, різних територіальних місць виділення, різні ізоляти, а їх було виділено 5, проявили себе однаково в рості на глюкозо-пептонному середовищі, у споживанні 5-ти цукрів та інших біохімічних характеристик.

Відповідно до одержаних даних, колонії бактерій були гладкі, круглі, жовтого кольору, виділені бактерії мали розміри 0,5–1,0 мкм, рухомі завдяки одному полярному джгутику, за Грамом не забарвлювались. Оптимальна температура росту бактерій — 25–27°C, аероби. Кислота утворювалась при метаболізмі в якості джерела вуглецю арабінози і галактози. Гідролізували крохмаль і твін-80. Мали оксидазну й каталазну активність. Після 5-ти діб культивування на глюкозо-пептонному щільному середовищі спостерігали повторний ріст сильно опуклих жовтих колоній розміром 1–2 мм у діаметрі. Виділені бактерії росли рівномірно на середовищі МПБ, утворювали плівку на поверхні. Максимальна температура їхнього росту становила 30°C. Колонії бактерій, морфологічно подібні до бактерій *Xylophilus ampelinus*, відсівали в пробірки зі скошеним глюкозо-пептонним агаром або картопляним. Виділені мікроорганізми ідентифікували за допомогою ІФА. Для ідентифікації виділених ізолятів використовували непрямий подвійний сендвіч-метод DASI-ELISA із використанням

1. Порівняльна біохімічна та фізіологічна характеристики ізолятів *Xylophilus ampelinus*, виділених із винограду і музейного штаму *X. ampelinus* 120-1

Біохімічні та фізіологічні властивості	Ізоляти бактерій	<i>Xylophilus ampelinus</i> штам 120-1
Розмір клітин, мкм	0,5—1	0,5—2,5 × 0,6—1,5
Рухомість	+	+
Забарвлення за Грамом	–	–
Оптимальна температура росту, °C	25—27	25—27
Аероби	+	+
Толерантність до NaCl, %	1	1
Утворення кислоти на джерелах вуглецю: арабіноза, галактоза, глюкоза, фруктоза, сахароза	+	+
Гідроліз крохмалю	–	–
Оксидазна активність	+	+
Каталазна активність	+	+
Гідроліз твіну-80	+	+
Примітка: «+» — позитивна реакція; «–» — негативна реакція.		

комерційних тест-систем (*Loewe*, Німеччина). В результаті проведених досліджень ідентифіковано кілька рослин із симптомами бактеріального некрозу (табл. 2).

З даних таблиці 2 зразки за №№ 1, 3, 4, 8, 11 мали високі показники OD₄₀₅, на рівні позитивного контролю. Рослини, в яких було ідентифіковано *Xylophilus ampelinus*, були небезпечними для навколишніх виноградних рослин і їх було знищено.

Таким чином, дослідженнями ідентифіковано *Xylophilus ampelinus* і *Eutipa lata* у виноградних

2. Ідентифікація збудника бактеріального некрозу методом ІФА (Одеська обл., 2020 р.)

Зразки	Концентрація збудника бактеріального некрозу (оптична щільність, OD ₄₀₅)
K +	0,919
K -	0,002
1	0,702
2	0,010
3	0,512
4	0,569
5	0,003
6	0,006
7	0,003
8	0,750
9	0,006
10	0,007
11	0,809

рослинах, що мали однакові симптоми бактеріального некрозу та еutipозу.

Своєчасне виявлення збудників бактеріального некрозу, еutipозу і їх своєчасна ідентифікація — це найважливіша проблема для виноградарства всього світу. Деякі автори стверджують, що *Xylophilus ampelinus* викликає широкий спектр неспецифічних симптомів, що ускладнює їхню ідентифікацію [13]. Як було зазначено авторами, здатність *Xanthomonas ampelina* виживати в рослині кілька років без прояву симптомів захворювання пов'язана з латентним періодом, тривалість якого залежить від багатьох факторів, включаючи кліматичні умови [13]. Співіснування близьких за філогенією штамів, але різко різних за своїм фенотипом збудника, створює додаткову проблему для діагностики.

У цьому контексті ефективність інтегрованих стратегій запобігання поширенню захворювання сильно залежить від наявності швидких, чутливих і специфічних методів діагностики, в тому числі їх визначення і в латентній формі. Для того, щоб гарантувати виробництво садивного матеріалу винограду, вільного від *Xylophilus ampelinus*, необхідно проводити діагностику бактеріального некрозу на всіх етапах розвитку рослини, використовуючи серологічні методи, а також проводити ідентифікацію виділених бактерій за морфологічними і біохімічними характеристиками. Тільки поєднання кількох методів ідентифікації збудників може гарантувати якісну діагностику [14]. За даними авторів, незважаючи на інтенсивні дослідження еutipозу, що були проведені за останні роки, на даний момент не існує заходів захисту винограду від цієї хвороби [15]. Тому своєчасна діагностика *E. lata* дуже важлива для запобігання поширенню хвороби. Проведеною роботою підтверджено результати досліджень зарубіжних колег [15], а також здійснена модифікація методики діагностики

еутипозу за допомогою ПЛР, яка була використана в Україні вперше. Одержані дані щодо ідентифікації збудників бактеріального некрозу та еутипозу винограду серологічним і молекулярно-біологічним методами є цінним інформаційним джерелом в аспекті запобігання поширенню цих хвороб на виноградних насадженнях півдня України, що дозволить значно прискорити перевірку великої кількості досліджених зразків і запобігти розповсюдженню цих хвороб.

Дослідження проведено за рахунок бюджетної тематики лабораторії вірусології і мікробіології ННЦ «ІВіВ «ім. В.Є. Таїрова» НАН України (програма 0116U001166 «Моніторинг вірусних, бактеріальних і фітоплазмозних хвороб винограду в Україні з метою визначення шляхів підвищення якості продукції виноградарства і виноробства до рівня вимог ЄС на 2016—2020 рр.»).

ВИСНОВКИ

За фітосанітарного обстеження виноградних насаджень Одеської області виявлено наявність бактеріального некрозу та еутипозу. Методом ПЛР з гелелектрофоретичною детекцією і методом непрямого подвійного сендвіч-методу DASI-ELISA встановлено, що виноградні рослини були уражені збудниками *Eutypa lata* і *Xylophilus ampelinus*. Одержані дані щодо виявлення й оптимізації методів діагностики бактеріального некрозу та еутипозу, ідентифікації їх збудників є цінною інформацією для запобігання поширенню небезпечних хвороб та збереження врожаю винограду. За результатами досліджень розроблено комплекс методів контролю якості продукції виноградарства і виноробства. Проведені дослідження дають змогу забезпечити виробництво якісного садивного матеріалу та закладання промислових виноградників здоровими саджанцями. Своєчасна діагностика цих хвороб винограду є метою визначення шляхів підвищення якості продукції виноградарства і виноробства до рівня вимог ЄС,

покращення якості вина та продукції виноградарства для досягнення стабільності та конкурентоспроможності вітчизняної продукції на міжнародному ринку.

ЛІТЕРАТУРА

- Christos G. Panagopoulos. Recent research progress on *Xanthomonas ampelina*. April 2008 *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*. Vol. 17. P. 225-230. DOI:10.1111/j.1365-2338.1987.tb00031.x
- Клечковський Ю.Е., Кульмінська Л.О., Конуп Л.О. Бактеріальне в'янення винограду — нова небезпека для виноградарства України. *Матер. міжнар. наук.-практ. конф. «Інтегрований захист рослин. Проблеми та перспективи»*. Київ, 13—16 листопада. 2006. С. 131—133.
- Кульмінська Л.О., Конуп Л.О. Виявлення та діагностика бактеріального в'янення винограду (Методичні рекомендації). Київ: Колобір, 2005. 16 с.
- Mette L. Creaser and Trevor J. Wicks Short-term effects of remedial surgery to restore productivity to *Eutypa lata* infected vines. *Phytopathologia Mediterranea* Vol. 43, No. 1, *Special issue from the 3th International Workshop on Grapevine Trunk Diseases (IWGTD)* (April 2004), pp. 105-107. DOI:10.14601/Phytopathol_Mediterr-1737
- Wayne M Pitt, Florent P Trouillas, Walter D Gubler, Sandra Savocchia, Mark R Sosnowski. Pathogenicity of Diatrypaceous Fungi on Grapevines in Australia *Plant Dis.* 2013 Jun; 97(6):749-756. doi: 10.1094/PDIS-10-12-0954-RE
- Moyo P, Mostert L, Spiess CFJ, Damm U, Halleen F. Diversity of Diatrypaceae Species Associated with Dieback of Grapevines in South Africa, with the Description of *Eutypa cremaea* sp. nov. *Plant Dis.* 2018 Jan; 102(1):220-230. doi: 10.1094/PDIS-05-17-0738-RE
- Molecular biomarker analysis — General definitions and requirements for microarray detection of specific nucleic acid sequences European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO). 2013. ISO 16578. <http://www.eppo.org>
- Lee S.B., Taylor J.W. Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. In: M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, T.J. White (eds). *PCR protocols: A guide to methods and applications*. Academic Press, San Diego, California. 1990. P. 282-287. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-0-12-372180-8.50038-x>
- Lecomte P, Peros J.-P., Blancard D., Bastien N., Delye C. PCR assays that identify the grapevine dieback fungus *Eutypa lata*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000. № 66. P. 4475-4480. DOI:10.1128/AEM.66.10.4475-4480.2000
- Catal M., Jordan S.A., Butterworth S.C., Schilder A.M.C. Detection of *Eutypa lata* and *Eutypella vitis* in Grapevine by Nested Multiplex Polymerase Chain Reaction. *Phytopathology*. 2007. Vol. 97. № 6. P. 737-47. DOI: 10.1094/PHYTO-97-6-0737
- Rolshausen P.E., Trouillas F., Gubler W.D. Identification of *Eutypa lata* by PCR-RFLP, *Plant Disease*. 2004. Vol. 88 No. 9. P. 925-929. DOI: 10.1094/PDIS.2004.88.9.925
- Tanja Drejo, Gabrijel Seljak, Janse J.D., I. Van Der Beld. First laboratory confirmation of *Xylophilus ampelinus* in Slovenia. April 2005 *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 35(1):149. 155. DOI:10.1111/j.1365-2338.2005.00795.x
- Catara V., Cubero J., Pothier J.F., Bosis E., Bragard C., Đermić E., Holeva M.C., Jacques M.A., Petter F., Pruvost O., Robène I,

Studholme D.J., Tavares F., Vicente J.G., Koenig R., Costa J. Trends in Molecular Diagnosis and Diversity Studies for Phytosanitary Regulated *Xanthomonas*. *Microorganisms*. 2021. Apr 16;9 (4). P. 862. DOI: 10.3390/microorganisms9040862

14. Timilsina S., Potnis N., Newberry E.A., Liyanapathirana P., Iruegas-Bocardo F., White F.F., Goss E.M., Jones J.B. *Xanthomonas* diversity, virulence and plant-pathogen interactions. *Nat. Rev. Microbiol.* 2020. № 18. P. 415-427. DOI: 10.1038/s41579-020-0361-8

15. Cardot C., Mappa G., La Camera S., Gaillard C., Vriet C., Lecomte P., Ferrari G., Coutos-Thévenot P. Comparison of the Molecular Responses of Tolerant, Susceptible and Highly Susceptible Grapevine Cultivars During Interaction With the Pathogenic Fungus *Eutypa lata*. *Front. Plant Sci.* 2019. № 10. P. 991. DOI: 10.3389/fpls.2019.00991

Kovaleva I., Konup L., Nikolaeva N., Konup A., Chistyakova V.

National Scientific Centre «Institute of viticulture and winemaking named after V.E. Tairov» NAAS, Ukraine, 27, 40 years of Victory, Odesa, 65496 e-mail: lkmicrobiol@ukr.net

Eutyposis and bacterial necrosis of the vine on the vineyards of the Odessa region

Goal. The aim of the study was to identify bacterial necrosis and eutyposis of the vine in vineyards in the Odessa region and to identify the causative agents of these diseases. **Methods.** For this, a phytosanitary examination of vine plantations was carried out to identify the symptoms of these diseases. To identify the causative agent of bacterial necrosis — *Xylophilus ampelinus*, a serological method of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used, for eutyposis, the causative agent of which is *Eutypa lata* — a molecular biological method of polymerase chain reaction (PCR) with gel electrophoretic detection. **Results.** As a result of a phytosanitary examination of vine plantations of various farms in the Odessa region, bushes of vine plants were found with characteristic symptoms of bacterial necrosis and eutyposis, namely, oppressed growth of shoots, small clusters or their absence, light brown necrosis was observed on the cross section of sleeves and boles. A non-seasonal change in the color of grape leaves, namely chlorosis, was noted. As a result of laboratory studies in plants with characteristic symptoms of diseases, the causative agents of bacterial necrosis and eutyposis of grapes were identified. **Conclusions.** As a result of a phytosanitary examination of vine plantations in the Odessa region, the presence of vine bushes with symptoms of bacterial necrosis and eutyposis was revealed. A small percentage of damage to vine bushes by the pathogen of bacterial necrosis and a significant defeat by the pathogen of eutyposis were established. Using the PCR method with gel electrophoretic detection, it was established that grape plants were affected by the causative agent of eutyposis. The causative agent of bacterial necrosis was identified by ELISA.

phytosanitary examination; PCR; ELISA; bacterial necrosis of grapes; *Xylophilus ampelinus*; eutyposis; *Eutypa lata*; grapes

Надійшла 18.05.2022 р.