

Оригинальная статья / Original article

<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2025-5-105-113>
УДК: 635.64:631.531:632.937.15

И.Н. Писарева^{1*}, О.О. Белошапкина²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»)
140150, Россия, Московская область,
м.о. Раменский, р.п. Быково, ул. Пограничная, 32

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» (ФГБОУ ВО РГАУ – МСХА имени К.А. Тимирязева)
127434, Россия, г. Москва,
ул. Тимирязевская, 49

*Автор для переписки: iruru@yandex.ru

Вклад авторов: Писарева И.Н.: разработка методики проведения опытов, проведение лабораторных исследований, обработка и анализ полученных данных, написание рукописи. Белошапкина О.О.: научное руководство исследованиями, методология и редактирование рукописи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Писарева И.Н., Белошапкина О.О. Культивируемые бактерии, ассоциированные с семенами томата. *Овощи России*. 2025;(5):105-113.
<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2025-5-105-113>

Поступила в редакцию: 16.07.2025

Принята к печати: 22.08.2025

Опубликована: 28.10.2025

Irina N. Pisareva^{1*}, Olga O. Beloshapkina²

¹All-Russian Plant Quarantine Center
32, Pogranichnaya st., Bykovo,
municipal district Ramensky,
Moscow region, Russia, 140150

²Russian State Agrarian University – Moscow
Timiryazev Agricultural Academy (RSAU-MTAA)
49, Timiryazevskaya st.,
Moscow, Russia, 127434

*Corresponding Author: iruru@yandex.ru

Authors' Contribution: Pisareva I.N.: development of experimental methodology, conducting laboratory research, processing and analyzing the data obtained, and writing a manuscript. Beloshapkina O.O.: scientific supervision of research, methodology and editing of the manuscript.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

For citation: Pisareva I.N., Beloshapkina O.O. Cultivated bacteria associated with tomato seeds. *Vegetable crops of Russia*. 2025;(5):105-113. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2025-5-105-113>

Received: 16.07.2025

Accepted for publication: 22.09.2025

Published: 28.10.2025

Культивируемые бактерии, ассоциированные с семенами томата

Check for updates



РЕЗЮМЕ

Актуальность. Болезни бактериальной этиологии, снижающие урожайность томата и в открытом, и в защищенном грунте, занимают особое место по вредности, интенсивности передачи в агроценозе и трудности лечения. Широкое распространение в мире бактериальных фитопатогенов на томате обусловлено тем, что они долгое время сохраняют жизнеспособность на поверхности и внутри семян. Цель данного исследования – уточнение состава культивируемых бактерий, ассоциированных с семенами томата разных гибридов и сортов, и выявление патогенных видов.

Материал и методика. Работу выполняли в отделе бактериологии Всероссийского центра карантина растений (Московская область, р.п. Быково). Для изучения состава культивируемых бактерий использовали семена 24 гибридов и сортов томата. Посев пробы из семян проводили на питательную среду YDC в двукратной повторности методом Дригальского. Чашки Петри инкубировали при 27°C. Выделение ДНК из чистой культуры бактерий проводили методом кипячения. Идентифицировали изоляты методом секвенирования по Сэнгеру. Для тестирования на патогенность из двухдневной чистой культуры изолятов *Pseudomonas* sp. и *Curtobacterium* sp. готовили бактериальную суспензию в стерильной дистиллированной воде в концентрации 10⁶ КОЕ/мл. Вырабатывали рассаду томата из семян 3 гибридов. Искусственное заражение растений проводили после появления 2-3 настоящих листьев методом инъекции в стебель между семядолями и первым настоящим листом в трехкратной повторности.

Результаты и обсуждение. При фитозекспертизе полученного семенного материала томата были выделены изоляты бактерий, относящиеся к 10 родам: *Sphingomonas*, *Micrococcus*, *Phyllobacterium*, *Ralstonia*, *Frigoribacterium*, *Arthrobacter*, *Devosia*, *Agrococcus*, *Pseudomonas*, *Curtobacterium*. Методом искусственного заражения рассады томата доказано, что патогенными для растений томата были представители родов *Pseudomonas* и *Curtobacterium*. Наиболее восприимчивыми к заражению бактериями рода *Pseudomonas* были растения гибрида Беллиозо F₁, некрозы на листьях которых были более многочисленными и крупнее, чем на Калланзо F₁ и особенно – Сенсерно F₁. Бактерии рода *Curtobacterium* оказались менее агрессивными и вызывали ими некрозы на листьях были мельче, чем при инокуляции бактериями рода *Pseudomonas*. Отмечено значительное угнетение роста испытываемых гибридов. При инокуляции *Pseudomonas* sp. растения отставали в росте от контроля на 40-50%, при заражении *Curtobacterium* sp. – на 44-54% в зависимости от гибрида. Таким образом, качественная и своевременная диагностика фитопатогенных возбудителей бактериальных заболеваний и выбраковка или дезинфекция семян являются эффективным способом снижения потерь урожая и повышения рентабельности производства томата.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

томат, фитопатогенные бактерии, симптомы бактериоза, тест на патогенность, микробиом растений

Cultivated bacteria associated with tomato seeds

ABSTRACT

Relevance. Bacterial diseases that reduce tomato yield in both open and protected ground occupy a special place due to their harmfulness, intensity of transmission in agroecosystem, and difficulty of treatment. The widespread distribution of bacterial phytopathogens on tomatoes worldwide is due to their ability to remain viable for a long time on the surface and inside seeds. The aim of this study is to clarify the composition of cultivated bacteria associated with seeds of different tomato varieties and to identify pathogenic species.

Material and Methodology. The work was conducted in the Bacteriology Department of the All-Russian Plant Quarantine Center (Moscow Region, town of Bykovo). To study the composition of cultivated bacteria, seeds from 24 varieties and hybrids of tomatoes were used. Seed samples were inoculated onto YDC nutrient medium in duplicate using the Drigalski method. Petri dishes were incubated at 27°C. DNA extraction from pure bacterial cultures was performed using the boiling method. Isolates were identified using Sanger sequencing. For pathogenicity testing, a bacterial suspension of isolates *Pseudomonas* sp. and *Curtobacterium* sp. was prepared from a two-day pure culture in sterile distilled water at a concentration of 10⁶ CFU/ml. Tomato seedlings were grown from seeds of three hybrids. Artificial infection of the plants was conducted after the appearance of 2-3 true leaves by injecting into the stem between the cotyledons and the first true leaf in triplicate.

Results and Discussion. During the phytosanitary examination of the obtained tomato seed material, bacterial isolates belonging to 10 genera were identified: *Sphingomonas*, *Micrococcus*, *Phyllobacterium*, *Ralstonia*, *Frigoribacterium*, *Arthrobacter*, *Devosia*, *Agrococcus*, *Pseudomonas*, and *Curtobacterium*. Using artificial infection of tomato seedlings, it was demonstrated that representatives of the genus *Pseudomonas* and *Curtobacterium* were pathogenic to tomato plants. It was found that plants of the Bellioso F₁ hybrid are most susceptible to infection with *Pseudomonas* bacteria, with more numerous and large necrosis on the leaves compared with the Callanzo F₁ hybrid and especially with the Senserno F₁ hybrid. The bacteria of the genus *Curtobacterium* were less aggressive, and the necroses they caused on the leaves were smaller than those caused by *Pseudomonas* bacteria. Significant growth inhibition of the tested varieties was noted. Upon inoculation with *Pseudomonas* sp., the plants lagged behind the control by 40-50%, while infection with *Curtobacterium* sp. resulted in a growth delay of 44-54%, depending on the hybrid. Thus, qualitative and timely diagnosis of phytopathogenic agents of bacterial diseases, along with the culling or disinfection of seeds, is an effective way to reduce yield losses and increase the profitability of tomato production.

KEYWORDS:

tomato, phytopathogenic bacteria, symptoms of bacterial disease, pathogenicity test, plant microbiome

Введение

Исследование состава культивируемых бактерий, ассоциированных с растениями, представляет собой одну из важнейших задач современного микробиологического и экологического исследования, поскольку она способствует глубокому пониманию взаимосвязей в агроэкосистемах и открывает новые перспективы для развития устойчивых агротехнологий [1–4]. В частности, бактерии, ассоциированные с семенами, играют ключевую роль в формировании микробиома растений [5, 6]. Изучение их состава помогает понять, как эти микроорганизмы влияют на здоровье и развитие растений. Некоторые бактерии могут действовать как биологические агенты, защищая растения от патогенов [7–9]. Понимание их состава может помочь в разработке методов и средств борьбы с заболеваниями растений. Определенные бактерии могут способствовать лучшему усвоению питательных веществ и росту растений. Изучение их взаимодействия с семенами может привести к повышению урожайности. Знание о полезных бактериях может помочь в создании эффективных биологических удобрений и средств для стимуляции роста, что является более экологически чистой альтернативой химическим минеральным удобрениям [7, 10–12]. Исследование состава бактерий способствует получению новых знаний о том, как растения адаптируются к различным условиям, включая стрессовые факторы, такие как засуха или высокие температуры. Иммунологический аспект изучения бактерий, ассоциированных с семенами важен для селекционной работы на устойчивость к патогенам и изменениям климата, может помочь в сохранении и улучшении генетического разнообразия сортов сельскохозяйственных культур. Полученные данные могут быть использованы для оптимизации агрономических практик, таких как обработка семян, для более эффективного и устойчивого сельского хозяйства [1, 7, 13]. Немаловажный методический аспект при разработке или совершенствовании способов фитосанитарного мониторинга болезней посевов и семян. Также очень важно иметь коллекцию сопутствующей бактериальной микробиоты при определении аналитической специфичности тест-систем для выявления и идентификации возбудителей бактериальных заболеваний растений. Аналитическая специфичность, наряду с аналитической чувствительностью, является очень важным параметром при валидации методов ПЦР [14, 15]. Высокая аналитическая специфичность обеспечивает возможность точного определения целевых последовательностей ДНК, что крайне важно для диагностики инфекционных заболеваний. Если метод имеет низкую специфичность, он может давать ложноположительные результаты, что приводит к неправильной интерпретации данных, ненужным дополнительным тестам и увеличению сроков лабораторных исследований. Высокая специфичность ПЦР-тестов помогает гарантировать, что полученные результаты действительно отражают наличие или отсутствие целевого организма или генетической последовательности, что особенно важно в рутинной лабораторной практике. Специфичность позволяет сравнивать различные методы диагностики и их эффективность, что может быть важно при выборе наиболее подходящего теста для конкретной ситуации. Определение аналитической специфичности тестов является частью стандартов качества для аккредитованных лабораторий.

Таким образом, изучение состава бактерий, ассоциированных с растениями, имеет важное значение для защиты

растений, селекционной работы, экологии и в целом – устойчивого сельского хозяйства.

Среди болезней, снижающих урожайность томата и в открытом, и в защищенном грунте особое место по вредности, интенсивности передачи в агроценозе и по трудности лечения занимают болезни бактериальной этиологии. Наиболее опасными и распространёнными болезнями данной этиологии являются: бактериальный рак томата (*Clavibacter michiganensis* (Smith; Davis et al.) Li et al.); некроз сердцевин стебля (*Pseudomonas corrugata* Roberts & Scarlett); бактериальная крапчатость листьев (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Young, Dye & Wilkie); чёрная бактериальная пятнистость томата (*Xanthomonas euvesicatoria* pv. *euvesicatoria* (Jones et al.) Constantin et al., *X. vesicatoria* (Doidge) Vauterin et al., *X. hortorum* pv. *gardneri* (Jones et al.) Moriniere et al., *X. euvesicatoria* pv. *perforans* (Jones et al., Constantin et al.) [16]. Симптомы этих заболеваний варьируют от пятнистостей на листьях до почти полной дефолиации, что негативно сказывается на фотосинтетической активности и продуктивности растений. В итоге плоды томата теряют товарный вид и ухудшаются их вкусовые качества. Широкое распространение в мире бактериальных фитопатогенов на этой культуре обусловлено тем, что, кроме как в растительных остатках, они долгое время сохраняют жизнеспособность на поверхности и внутри семян. Согласно данным [17] при благоприятных условиях для развития *C. michiganensis* достаточно 1 зараженного семени из 10000 для того, чтобы вызвать массовое поражение растений бактериальным раком томата. Патоген системно колонизирует ксилему, вызывая увядание листочков с одной стороны сложного листа, некроз краёв листовой пластинки, растрескивание стеблей и в конечном итоге приводит к увяданию и гибели всего растения. При эпифитотии гибнет от 46 до 93% растений, а средний вес плодов снижается примерно на 50%. Как правило, заражение семян томатов *C. michiganensis* происходит системно через сосудистую ткань. При раннем заражении плоды деформируются и приобретают уродливую форму. Семена таких плодов темнеют и теряют всхожесть. При более позднем внутреннем заражении плоды и семена сохраняют нормальный внешний вид, а всхожесть семян остается на высоком уровне. Благодаря своей устойчивости к высушиванию, бактерия может сохраняться на семенах или внутри них в течение многих лет. После посадки рассады с латентной инфекцией симптомы на томатах могут проявиться только через 35–42 дня [18]. Таким образом, качественные здоровые семена играют критическую роль в обеспечении успешного выращивания томата, как и всех видов сельскохозяйственных культур. При прочих равных условиях применение семян высокого качества способствует увеличению урожайности на 18–20% [19]. В связи с этим, своевременная и качественная диагностика возбудителей бактериальных заболеваний и выбраковка или дезинфекция семян являются эффективным способом снижения потерь урожая и повышения рентабельности производства томата.

Цель данного исследования – уточнение состава культивируемых бактерий, ассоциированных с семенами томата разных гибридов и сортов, и выявление патогенных видов. Одной из задач была идентификация бактериальных изолятов методом секвенирования и последующее определение их патогенности.

Материал и методы проведения исследований

Для изучения состава культивируемых бактерий, колонизирующих семенной материал, использовали 24 гибрида/сорта томата: Манар F₁, Лоджейн F₁, Вернер F₁, Аксиродиус F₁, Максимато F₁, Чери Блосэм F₁, Пинк Парадайз F₁, Димероза F₁, Пинк Мэдджик F₁, Прунакс F₁, Пинк Пионер F₁, Кэти Роуз F₁, Де

Патогенность выделенных изолятов исследовали методом искусственного заражения растений в стадии рассады трех гибридов томата: Беллиозо F₁, Калланзо F₁ и Сенсерно F₁. Инокулировали 3х3 растения (3 блока по 3 растения). В таблице 1 представлена краткая характеристика гибридов.

Из двухдневной чистой культуры выделенных идентифици-

Таблица 1. Краткая характеристика гибридов
Table 1. Brief description of hybrids

Название гибрида	Направление использования/ группа спелости	Тип растения/ условия выращивания	Форма плода	Примечания
Беллиозо F ₁	салатный/ среднеспелый	индетерминантное/ светокультура	округлая	Для товарного производства. Гибрид устойчив к вертициллезу, фузариозному увяданию, а также к вирусу мозаики томата.
Калланзо F ₁	салатный/ среднепоздний	индетерминантное/ защищенный грунт	плоскоокруглая	Включён в Госреестр по 3 ей световой зоне для выращивания в зимних теплицах в продлённом обороте.
Сенсерно F ₁	салатный/ раннеспелый	индетерминантное/ сад-огород для защищенного грунта	плоскоокруглая	Для ЛПХ. Гибрид устойчив к вертициллезу, фузариозному увяданию, а также к вирусу мозаики томата.

Барао розовый, Мануза F₁, Имран F₁, Агилис F₁, Усмань F₁, Томат Диаболик F₁, Волгоградский 5/95, Эрон F₁, Семко 2006 F₁, Амоурин F₁, Максеза F₁, Томат Энроза F₁.

Подготовку проб семян проводили модифицированным методом дробления (гомогенизации) [16]. Полученный в результате пробоподготовки экстракт из семян использовали для приготовления трех последовательных 10-кратных разведений. Затем 2-е и 3-е разведения высевали на декстрозно-дрожжевой карбонатный агар (YDC) в двукратной повторности по 100 мкл методом Дригальского.

Чашки Петри инкубировали при 27°C. Начиная с третьих суток, вели наблюдение за ростом бактерий и отсеивали различающиеся по морфологии колонии на среду YDC. Закладывали чистую культуру выделенных изолятов в криопробирки и хранили их при температуре -80°C в виде суспензии в стерильном растворе 15%-го глицерина.

Выделение ДНК из чистой культуры бактериальных клеток проводили методом кипячения.

Для идентификации бактериальных изолятов использовали метод секвенирования по Сэнгеру с универсальными праймерами 8UA/519R на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500. Обработку генетических последовательностей проводили в программе BioEdit. Полученные последовательности сравнивали с последовательностями видов бактерий, представленными в GenBank при помощи приложения BLAST.

рованных изолятов бактерий родов *Pseudomonas* и *Curtobacterium* готовили бактериальную суспензию в стерильной дистиллированной воде в концентрации 106-107 КОЕ/мл. В качестве отрицательного контроля использовали стерильную дистиллированную воду. Рассаду томата из семян выращивали в течение 3-х недель. Искусственное заражение (инокуляцию) растений проводили после появления 2-3 настоящих листьев методом инъекции в трехкратной повторности. Для этого суспензию в объеме 1 мл набирали в шприц с иглой и вводили в растение путем укола в стебель между семядолями и первым настоящим листом. Растения не поливали за 1 день до заражения, чтобы повысить вероятность усвоения инокулята. После инокуляции рассаду поливали и укрывали полиэтиленовыми пакетами на 48 часов для поддержания высокой влажности. Далее рассаду выращивали в условиях комнатной температуры, естественном освещении при умеренном поливе. Начиная с третьего дня после искусственного заражения, растения ежедневно осматривали и фотографировали симптомы на листьях.

Результаты исследований

Проведенная начальная подготовка аналитических проб для исследования бактериальных патогенов была направлена на избавление, по возможности, от большей части нецелевой микобиоты. Таким образом, в нашем опыте с посевами на чашках Петри грибные колонии практически

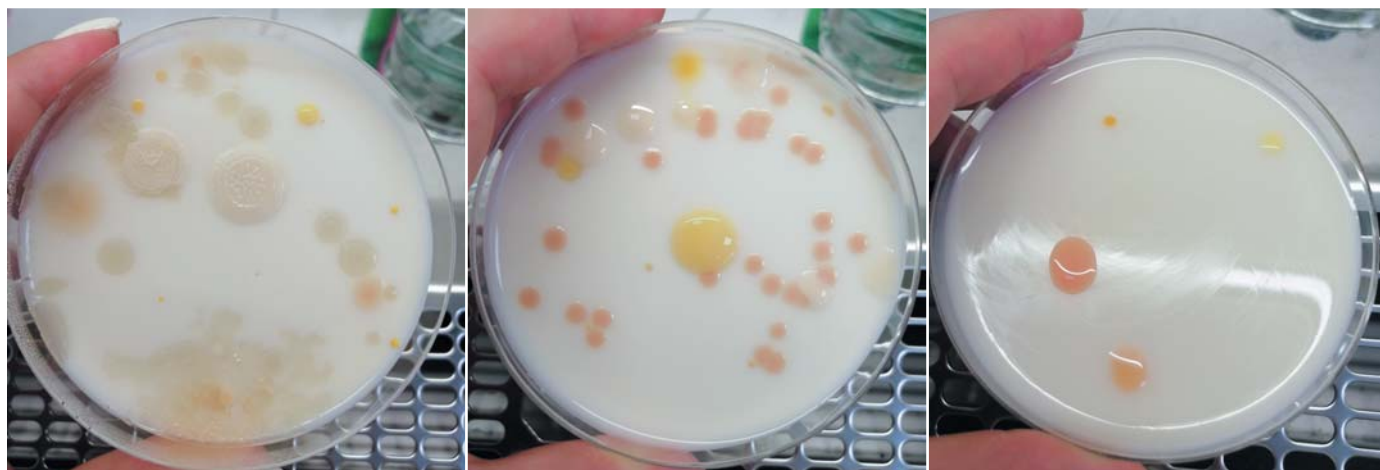


Рис. 1. Разнообразие культивируемых бактерий на среде YDC, ассоциированных с семенами томата
Fig. 1. Diversity of cultivated bacteria on YDC medium associated with tomato seeds

Таблица 2. Результаты идентификации выделенных из семян томата бактериальных изолятов
Table 2. Results of the identification of bacterial isolates obtained from tomato seeds

Название гибрида/сорта	Название рода бактерии	Частота встречаемости, %	Название вида бактерии
Манар F ₁	<i>Sphingomonas</i> sp.	50,0	-
Лоджейн F ₁	<i>Ralstonia</i> sp. <i>Sphingomonas</i> sp.	8,3 50,0	<i>R. pickettii</i> -
Вернер F ₁	<i>Micrococcus</i> sp.	25,0	-
Аксиродиус F ₁	<i>Sphingomonas</i> sp.	50,0	-
Максимато F ₁	<i>Sphingomonas</i> sp.	50,0	-
Чери Блосэм F ₁	<i>Micrococcus</i> sp.	25,0	-
Пинк Парадайз F ₁	<i>Pseudomonas</i> sp.	4,2	-
Димероза F ₁	<i>Sphingomonas</i> sp.	50,0	-, -
Пинк Мэджик F ₁	<i>Sphingomonas</i> sp. <i>Phyllobacterium</i> sp.	50,0 25,0	- <i>P. myrsinacearum</i>
Прунакс F ₁	<i>Micrococcus</i> sp. <i>Sphingomonas</i> sp.	25,0 50,0	- -
Пинк Пионер F ₁	<i>Sphingomonas</i> sp.	50,0	-
Кэти Роуз F ₁	<i>Curtobacterium</i> sp. <i>Sphingomonas</i> sp.	4,2 50,0	<i>C. flaccumfaciens</i> -
Де Барао розовый	<i>Frigoribacterium</i> sp. <i>Sphingomonas</i> sp.	4,2 50,0	- -, -
Мануза F ₁	<i>Phyllobacterium</i> sp.	25,0	<i>P. myrsinacearum</i>
Имран F ₁	<i>Phyllobacterium</i> sp.	25,0	<i>P. myrsinacearum</i>
Агилис F ₁	<i>Micrococcus</i> sp.	25,0	-
Усмань F ₁	<i>Micrococcus</i> sp.	25,0	-
Диаболик F ₁	<i>Sphingomonas</i> sp.	50,0	-
Волгоградский 5/95	<i>Arthrobacter</i> sp. <i>Devosia</i> sp. <i>Agrococcus</i> sp.	4,2 4,2 4,2	- - -
Эрон F ₁	<i>Ralstonia</i> sp.	8,3	<i>R. pickettii</i>
Семко 2006 F ₁	<i>Phyllobacterium</i> sp.	25,0	<i>P. myrsinacearum</i>
Амоурин F ₁	<i>Phyllobacterium</i> sp.	25,0	<i>P. myrsinacearum</i>
Макседа F ₁	<i>Sphingomonas</i> sp. <i>Micrococcus</i> sp.	50,0 25,0	- -
Энроза F ₁	<i>Phyllobacterium</i> sp.	25,0	<i>P. myrsinacearum</i>

отсутствовали, при этом был отмечен рост бактериальных колоний разной морфологии (рис. 1).

Количество бактериальных колоний, отобранных нами для идентификации, составило 34 штуки. В таблице 2 представлены результаты их секвенирования.

В составе культивируемых бактерий, колонизирующих обследуемый семенной материал томата, были идентифицированы изоляты, относящиеся к 10 родам бактерий: *Sphingomonas*, *Micrococcus*, *Phyllobacterium*, *Ralstonia*, *Frigoribacterium*, *Arthrobacter*, *Devosia*, *Agrococcus*, *Pseudomonas*, *Curtobacterium*. Ниже приведена их краткая характеристика. Виды рода *Sphingomonas* широко распространены в природе, их выделяли из различных наземных

и водных местообитаний, а также с поверхности листьев, семян и цветков 26 видов растений, принадлежащих к 11 семействам [20]. Известно, что среди бактерий этого рода есть виды, участвующие в деградации металлоорганических соединений, некоторые виды улучшают рост растений в стрессовых условиях, таких как засуха, загрязнение тяжелыми металлами и засоление почв [21]. В нашем исследовании было выделено 14 изолятов *Sphingomonas* spp. из семян томата 12 гибридов и сортов. Было отмечено, что эти изоляты значительно отличались друг от друга по ряду морфологических признаков, в том числе цвет колоний варьировал от молочно-белого до оранжевого (рис. 2).



Рис. 2. Разнообразие окраски бактериальных изолятов, идентифицированных как *Sphingomonas* spp.
Fig. 2. Diversity of coloration of bacterial isolates identified as *Sphingomonas* spp.

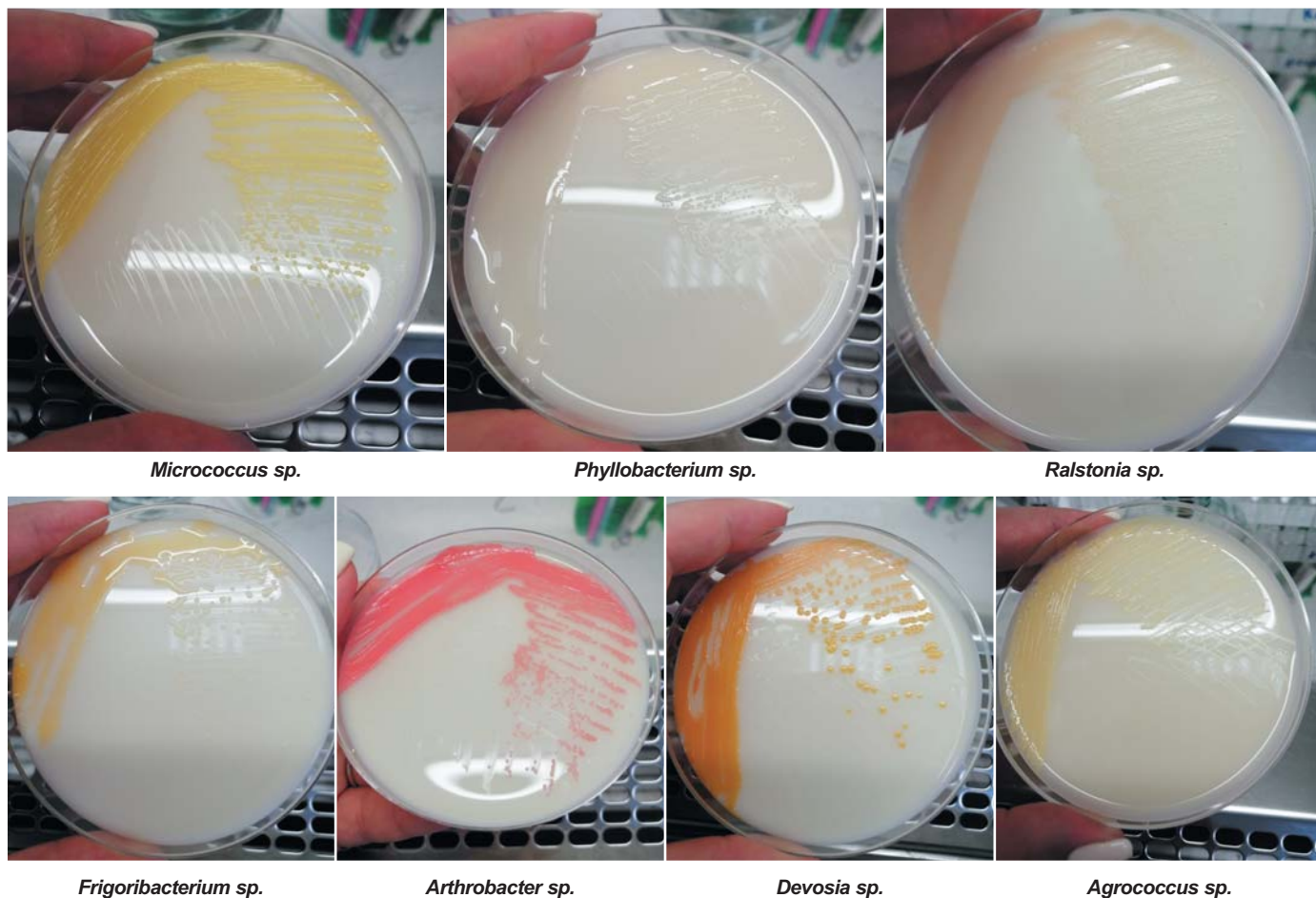


Рис. 3. Разнообразие бактериальных изолятов, выделенных с семян томата
Fig. 3. Diversity of bacterial isolates obtained from tomato seeds

Бактерии *Micrococcus* spp. являются облигатными аэробами, чаще сапротрофами, фитопатогенных видов нет. В окружающей среде распространены широко, их обнаруживают в почве, пыли, воде и воздухе [22].

Вид *Phyllobacterium myrsinacearum* – грамотрицательная бактерия, выделенная из корнеплодов сахарной свеклы [23].

Бактерии *Ralstonia pickettii* выделяли из воды, почвы и растений, а также из образцов слюны здоровых людей [24].

Виды родов *Frigoribacterium*, *Arthrobacter* и *Devosia* – типичные представители почвенных бактерий [25–27].

Бактерии *Agrococcus* spp. широко распространены в окружающей среде, включая почву, растения, водоемы и пищевые продукты [28].

Колонии выделенных из семян томата изолятов, относящихся к вышеперечисленным родам представлены на рисунке 3.

Анализ литературы и опыт практической работы показал, что из выделенных нами с семян томата бактерий потенциально патогенными для растений томата могут быть представители родов *Pseudomonas* и *Curtobacterium* (рис. 4).

Наиболее широко распространен в природе род *Pseudomonas*. Эти грамотрицательные неспорообразующие бактерии обитают в почве, водоемах, филосфере и ризосфере растений, часть видов являются фитопатогенными представителями [29, 30]. Например, к патогенам растений томата относятся виды *Pseudomonas corrugate* (возбуди-



Pseudomonas sp.



Curtobacterium sp.

Рис. 4. Фитопатогенные изоляты родов *Pseudomonas* (слева) и *Curtobacterium* (справа)
Fig. 4. Phytopathogenic isolates of the genera *Pseudomonas* (on the left) and *Curtobacterium* (on the right)

Беллиозо F₁Калпанзо F₁Сенсерно F₁

Рис. 5. Некрозы, вызванные *Pseudomonas* sp. при искусственном заражении
Fig. 5. Necroses caused by *Pseudomonas* sp. during artificial infection



Рис. 6. Общий вид растений гибрида Беллиозо F₁ спустя 3 недели после инокуляции *Pseudomonas* sp. (3 слева) и контрольные растения (2 справа)
Fig. 6. General appearance of Belliozo F₁ hybrid plants three weeks after inoculation with *Pseudomonas* sp. (3 on the left) and control plants (2 on the right)

тель некроза сердцевины стебля томата) и *Pseudomonas syringae* pv. tomato (возбудитель бактериальной крапчатости листьев томата) [16, 31].

По результатам проведенного искусственного заражения растений томата изолятом *Pseudomonas* sp., оказалось, что на листовых пластинках всех трех испытываемых гибридов образовались белесые и бело-желтые некрозы, наиболее крупные на Беллиозо F₁ (рис. 5).

Впоследствии через 3 недели после инокуляции, растения значительно отставали в росте и имели более светлую окраску листьев, по сравнению с контрольными растениями. Более восприимчивым к заражению оказался гибрид Беллиозо F₁ (рис. 6).

Отмечено отставание в развитии инокулированных растений. Растения томата Беллиозо F₁ и Калпанзо F₁ формировали на 2 сложных листа меньше по сравнению с контрольными, а растения Сенсерно F₁ – на 1 лист меньше.

В таблице 3 представлены результаты измерения высоты опытных растений. Как можно заметить, зараженные растения отставали по высоте на 40-50% по отношению к контрольным. В частности, Беллиозо F₁ и Сенсерно F₁ были ниже контроля на 50 и 47%, соответственно, а Калпанзо F₁ – на 40% ниже контрольных. Его можно условно считать более устойчивым, учитывая более мелкие хлоротичные некрозы и высоту зараженных растений. На основе проведенного анализа видно, что разница между средними значе-

Таблица 3. Результаты измерения высоты растений, инокулированных *Pseudomonas* sp. и контрольных образцов
Table 3. Results of measuring the height of plants inoculated with *Pseudomonas* sp. and control samples

Название гибрида	Блок	Высота растения, см / повторности								НСР (при t = 0,05)	Высота растений, в % к контролю
		1	2	3	ср.	1 К	2 К	3 К	ср.		
Беллиозо F ₁	1	28,8	31,5	42,9	34,4	70,4	66,7	68,7	68,6	3,3	50
	2	30,1	34,9	36,2		71,4	67,3	66,8			
	3	32,8	34,5	37,9		67,2	67,6	71,3			
Калпанзо F ₁	1	33,6	38,3	47,0	39,6	61,3	69,6	66,5	65,8	3,7	60
	2	35,3	38,7	40,8		67,3	66,7	65,7			
	3	38,2	37,5	47,0		63,3	64,9	66,9			
Сенсерно F ₁	1	31,0	31,6	34,1	32,2	64,1	57,7	61,1	61,0	2,0	53
	2	30,8	31,2	33,3		62,3	58,7	61,7			
	3	34,7	31,0	32,1		63,7	57,8	61,9			

Беллиозо F₁Калланзо F₁Сенсерно F₁

Рис. 7. Некрозы, вызванные *Curtobacterium* sp. при искусственном заражении
Fig. 7. Necroses caused by *Curtobacterium* sp. during artificial infection



Рис. 8. Общий вид растений гибрида Сенсерно F₁ спустя 3 недели после инокуляции *Curtobacterium* sp. (3 слева) и контрольные растения (2 справа)

Fig. 8. General appearance of Senserno hybrid plants three weeks after inoculation with *Curtobacterium* sp. (3 on the left) and control plants (2 on the right)

ниями показателей у зараженных и не зараженных растений значительно превышает критическую разницу (НСР). Поэтому можно заключить, что различия между зараженными и не зараженными растениями статистически существенны.

Ассоциированные с семенами томата бактерии *Curtobacterium flaccumfaciens* – являются возбудителями бактериального увядания ряда культурных растений, в том числе сои, фасоли, свёклы, тюльпанов и других [32–34].

Проведенное нами искусственное заражение рассады томата трех испытываемых гибридов выделенным бактериальным изолятом *Curtobacterium* sp. также подтвердило его патогенность. На листьях были отмечены эпинастии (изгибы листовых пластинок) и точечные хлоротичные некрозы, хорошо заметные на просвет. Наиболее восприимчивыми оказались растения томата Беллиозо F₁ с наиболее заметной симптоматикой (рис. 7).

Растения, инокулированные изолятом *Curtobacterium* sp., тоже значительно отставали в росте и имели более светлую окраску листьев, по сравнению с контрольными растениями. Также были отмечены признаки начального увядания растений. Более восприимчивым к заражению этими бактериями оказался гибрид Сенсерно F₁ (рис.8).

В таблице 4 представлены результаты измерения высоты опытных растений. Как видно из таблицы, зараженные растения отставали в росте на 44–54% по отношению к конт-

Таблица 4. Результаты измерения высоты растений, зараженных *Curtobacterium* sp. и контрольных образцов
Table 4. Results of measuring the height of plants infected with *Curtobacterium* sp. and control samples

Название гибрида	Блок	Высота растения, см / повторности								НСР (при t = 0,05)	Высота растений, в % к контролю
		1	2	3	ср.	1 К	2 К	3 К	ср.		
Беллиозо F ₁	1	43,6	32,8	37,5	37,9	70,4	66,7	68,7	68,6	3,2	55
	2	36,4	42,5	33,8		71,4	67,3	66,8			
	3	33,5	41,7	39,3		67,2	67,6	71,3			
Калланзо F ₁	1	39,8	34,2	37,0	37,0	61,3	69,6	66,5	65,8	2,1	56
	2	39,0	34,7	36,5		67,3	66,7	65,7			
	3	37,6	38,5	35,7		63,3	64,9	66,9			
Сенсерно F ₁	1	26,9	27,5	27,4	27,9	64,1	57,7	61,1	61,0	2,4	46
	2	31,9	25,9	27,0		62,3	58,7	61,7			
	3	26,8	25,6	32,1		63,7	57,8	61,9			

рольным растениям. В частности, растения томата Беллиозо F₁ и Калланзо F₁ были ниже контроля на 45 и 44%, соответственно. Гибрид Сенсерно F₁ оказался менее устойчивым, и высота растений была на 54% ниже контрольных растений. Различия между зараженными и не зараженными растениями существенны, так как фактическая разница между вариантами больше НСР.

Также отмечено отставание в развитии зараженных растений. Растения томата Беллиозо F₁ и Калланзо F₁ сформировали на 2 сложных листа меньше по сравнению с контролем, а растения Сенсерно F₁ – на 1 лист меньше.

Выводы

При фитоэкспертизе семенного материала томата 24 гибридов и сортов были выделены изоляты бактерий, по результатам проведенного секвенирования относящиеся к 10 родам: *Sphingomonas*, *Micrococcus*, *Phyllobacterium*, *Ralstonia*, *Frigoribacterium*, *Arthrobacter*, *Devosia*, *Agrococcus*, *Pseudomonas*, *Curtobacterium*.

Методом искусственного заражения рассады томата путем укола в стебель доказано, что патогенными для растений томата были представители родов *Pseudomonas* и *Curtobacterium*.

Наиболее восприимчивыми к заражению бактериями рода *Pseudomonas* были растения томата Беллиозо F₁, которые отставали в росте на 50% по отношению к контрольным растениям, при этом некрозы на листьях этого гибрида были более многочисленные и крупнее, чем на Калланзо F₁ и особенно – на Сенсерно F₁.

Бактерии рода *Curtobacterium* оказались менее агрессивными по проявлению симптоматики (некрозов на листьях). Однако зараженные растения отставали в росте на 44-54% по отношению к контрольным растениям. Наименее устойчивыми оказались растения гибрида Сенсерно F₁.

При инокуляции бактериями обоих родов выявлено достоверное снижение высоты растений и уменьшение числа листьев.

• Литература

- Bulgarelli D., Rott M., Schlaeppi K., Ver Loren van Themaat E., Ahmadinejad N., Assenza F., Schulze-Lefert P. Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature*. 2012;488(7409):91-95. <https://doi.org/10.1038/nature11336>
- Mendes R., Garbeva P., Raaijmakers J. M. The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS microbiology reviews*. 2013;37(5):634-663. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028>
- Lundberg D.S., Lebeis S.L., Paredes S.H., Yourstone S., Gehring J., Malfatti S., Dangi J.L. Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome. *Nature*. 2012;488(7409):86-90. <https://doi.org/10.1038/nature11237>
- Van Der Heijden M.G., Bardgett R.D., Van Straalen N.M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology letters*. 2008;11(3):296-310. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2007.01139.x>
- Nelson E.B. The seed microbiome: origins, interactions, and impacts. *Plant and Soil*. 2018;422:7-34. <https://doi.org/10.1007/s11104-017-3289-7>
- Muller D.B., Vogel C., Bai Y., Vorholt J.A. The plant microbiota: systems-level insights and perspectives. *Annual review of genetics*. 2016;50(1):211-234. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120215-034952>
- Lugtenberg B., Kamilova F. Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual review of microbiology*. 2009; 63(1):541-556. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>
- Haas D., Defago G. Biological control of soil-borne pathogens by fluorescent pseudomonads. *Nature reviews microbiology*. 2005;3(4):307-319. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1129>
- Berendsen R.L., Pieterse C.M., Bakker P.A. The rhizosphere microbiome and plant health. *Trends in plant science*. 2012;17(8):478-486. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.04.001>
- Compant S., Clement C., Sessitsch A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biology and Biochemistry*. 2010;42(5):669-678. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.024>
- Glick B.R. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*. 2012;(1):963401. <https://doi.org/10.6064/2012/963401>
- Vessey J.K. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and soil*. 2003;255:571-586. <https://doi.org/10.1023/A:1026037216893>
- Yang J., Kloepper J.W., Ryu C.M. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends in plant science*. 2009;14(1):1-4. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2008.10.004>
- Белошапкина О.О., Писарева И.Н. Определение аналитической чувствительности и специфичности методов ПЦР для диагностики черной бактериальной пятнистости томата. *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2024;(3):78-94. <https://doi.org/10.26897/0021-342X-2024-3-78-94> <https://www.elibrary.ru/nefuxa>
- Оболенский Р.Р., Словарева О.Ю., Дорофеева Л.В. Оценка применимости ПЦР-теста в режиме «реального времени» для идентификации возбудителя желтого слизистого бактериоза пшеницы *Rathayibacter tritici*. *Фитосанитария. Карантин растений*. 2025;1(22):26-39. <https://doi.org/10.69536/FKR.2025.85.45.003> <https://www.elibrary.ru/wiuyiq>
- Писарева И.Н., Белошапкина О.О. Современная диагностика бактериозов в семенах для защиты томата. *Известия ФНЦО*. 2024;(2):7-13. <https://doi.org/10.18619/2658-4832-2024-2-7-13> <https://www.elibrary.ru/ehksoe>
- Xhemali B., Giovanardi D., Biondi E., Stefani E. Tomato and pepper seeds as pathways for the dissemination of phytopathogenic bacteria: A constant challenge for the seed industry and the sustainability of crop production. *Sustainability*. 2024;16(5):1808. <https://doi.org/10.3390/su16051808>
- Peritore-Galve F.C., Tancos M.A., Smart C.D. Bacterial canker of tomato: revisiting a global and economically damaging seedborne pathogen. *Plant Disease*. 2021;105(6):1581-1595. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-20-1732-FE>
- Gebeyaw M. Review on: Impact of seed-borne pathogens on seed quality. *American Journal of Plant Biology*. 2020;(5):77-81. <https://doi.org/10.11648/j.ajpb.20200504.11>
- Kim H., Nishiyama M., Kunito T., Senoo K., Kawahara K., Murakami K., Oyaizu H. High population of *Sphingomonas* species on plant surface. *Journal of applied microbiology*. 1998;85(4):731-736.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1998.00586.x>

21. Asaf S., Numan M., Khan A.L., Al-Harrasi A. Sphingomonas: from diversity and genomics to functional role in environmental remediation and plant growth. *Critical Reviews in Biotechnology*. 2020;40(2):138-152. <https://doi.org/10.1080/07388551.2019.1709793>
22. Zhang J.Y., Liu X.Y., Liu S.J. *Agrococcus terreus* sp. nov. and *Micrococcus terreus* sp. nov., isolated from forest soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2010; 60(8):1897-1903. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.013235-0>
23. Mergaert J., Cnockaert M. C., Swings J. *Phyllobacterium myrsinacearum* (subjective synonym *Phyllobacterium rubiacearum*) emend. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2002;52(5):1821-1823. <https://doi.org/10.1099/00207713-52-5-1821>
24. Stelzmueller I., Biebl M., Wiesmayr S., Eller M., Hoeller E., Fille M., Bonatti H. *Ralstonia pickettii* – innocent bystander or a potential threat? *Clinical Microbiology and Infection*. 2006;12(2):99-101. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01309.x>
25. Kong D., Guo X., Zhou S., Wang H., Wang Y., Zhu J. Ruan, Z. *Frigoribacterium salinisoli* sp. nov., isolated from saline soil, transfer of *Frigoribacterium mesophilum* to *Parafrigoribacterium* gen. nov. as *Parafrigoribacterium mesophilum* comb. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2016;66(12):5252-5259. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001504>
26. Busse H.J. Review of the taxonomy of the genus *Arthrobacter*, emendation of the genus *Arthrobacter* sensu lato, proposal to reclassify selected species of the genus *Arthrobacter* in the novel genera *Glutamicibacter* gen. nov., *Paeniglutamicibacter* gen. nov., *Pseudoglutamicibacter* gen. nov., *Paenarthrobacter* gen. nov. and *Pseudarthrobacter* gen. nov., and emended description of *Arthrobacter roseus*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*. 2016;66(1):9-37. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.000702>
27. Yoon J.H., Kang S.J., Park S., Oh T.K. *Devosia insulae* sp. nov., isolated from soil, and emended description of the genus *Devosia*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2007;57(6):1310-1314. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.65028-0>
28. White III R.A., Gavelis G., Soles S.A., Gosselin E., Slater G.F., Lim D.S., Suttle C.A. The complete genome and physiological analysis of the microbialite-dwelling *Agrococcus pavilionensis* sp. nov; reveals genetic promiscuity and predicted adaptations to environmental stress. *Frontiers in microbiology*. 2018;9:2180. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02180>
29. Lalucat J., Gomila M., Mulet M., Zaruma A., & Garcia-Valdes E. Past, present and future of the boundaries of the *Pseudomonas* genus: proposal of *Stutzerimonas* gen. nov. *Systematic and applied microbiology*. 2022; 45(1):126289. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2021.126289>
30. Тараканов Р.И., Игнат'ева И.М., Белошاپкина О.О., Чебаненко С.И., Каратаева О. Г., Джалилов Ф.С. Выявление возбудителя бактериального ожога сои *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* в семенах методом ПЦР. *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2024;(1):41-52. <https://doi.org/10.26897/0021-342X-2024-1-41-52> <https://www.elibrary.ru/bjiwxk>

ственной академии. 2024;(1):41-52. <https://doi.org/10.26897/0021-342X-2024-1-41-52> <https://www.elibrary.ru/bjiwxk>

31. Licciardello G., Bertani I., Steindler L., Bella P., Venturi V., Catara V. *Pseudomonas corrugata* contains a conserved N-acyl homoserine lactone quorum sensing system; its role in tomato pathogenicity and tobacco hypersensitivity response. *FEMS microbiology ecology*. 2007;61(2):222-234. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2007.00338.x>
32. Osdaghi E., Taghouthi G., Dutrieux C., Taghavi S. M., Fazliarab A., Briand M., Jacques M. A. Whole Genome Resources of 17 *Curtobacterium flaccumfaciens* Strains Including Pathotypes of *C. flaccumfaciens* pv. *betae*, *C. flaccumfaciens* pv. *oortii*, and *C. flaccumfaciens* pv. *poinsettiae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2022;35(4):352-356. <https://doi.org/10.1094/MPMI-11-21-0282-A>
33. Tarakanov R.I., Lukianova A.A., Pilik R.I., Evseev P.V., Miroshnikov K.A., Dzhililov F.S. U., Tesic S., Ignatov A.N. First report of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* causing bacterial tan spot of soybean in Russia. *Plant disease*. 2023;107(7):2211. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-22-1778-PDN>
34. Tokmakova A.D., Tarakanov R.I., Lukianova A.A., Evseev P.V., Dorofeeva L.V., Ignatov A.N., Dzhililov F.S.U., Subbotin S.A., Miroshnikov K.A. Phytopathogenic *Curtobacterium flaccumfaciens* strains circulating on leguminous plants, alternative hosts and weeds in Russia. *Plants*. 2024;13(5):667. <https://doi.org/10.3390/plants13050667>

• References (in Russ.)

14. Beloshapkina O.O., Pisareva I.N. Determination of the analytical sensitivity and specificity of PCR methods for the diagnosis of bacterial spot of tomato. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2024;(3):78-94. <https://doi.org/10.26897/0021-342X-2024-3-78-94> <https://www.elibrary.ru/nefuxa> (In Russ.)
15. Obolenksy R.R, Slovareva O.Yu., Dorofeeva L.V. Evaluation of the real-time PCR applicability for the identification of bacterial ear rot of wheat *Rathayibacter tritici*. *Plant Health and Quarantine*. 2025;1(22):26-39. (In Russ.) <https://doi.org/10.69536/FKR.2025.85.45.003> <https://www.elibrary.ru/wiuyiq>
16. Pisareva I.N., Beloshapkina O.O. Modern diagnosis of bacteriosis in seeds for tomato protection. *News of FSVC*. 2024;(2):7-13. (In Russ.) <https://doi.org/10.18619/2658-4832-2024-2-7-13> <https://www.elibrary.ru/ehksoe>
30. Tarakanov R.I., Ignat'eva I.M., Beloshapkina O.O., Chebanenko S.I., Karataeva O.G., Dzhililov F.S. Detection of the soybean bacterial blight pathogen *Pseudomonas savastanoi* pv. *glycinea* in seeds by the PCR method. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*, 2024;(1):41-52. (In Russ.) <https://doi.org/10.26897/0021-342X-2024-1-41-52> <https://www.elibrary.ru/bjiwxk>

Об авторах:

Ирина Николаевна Писарева – научный сотрудник научно-методического отдела бактериологии, <https://orcid.org/0000-0002-3084-0591>, SPIN-код: 2588-4926, автор для переписки, iruru@yandex.ru

Ольга Олеговна Белошاپкина – доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры защиты растений, <https://orcid.org/0000-0002-8564-8142>, SPIN-код: 4482-1623, beloshapkina@rgau-msha.ru

About the Authors:

Irina N. Pisareva – Researcher of the Research and Methodology Department of Bacteriology, <https://orcid.org/0000-0002-3084-0591>, SPIN-code: 2588-4926, Corresponding Author, iruru@yandex.ru
Olga O. Beloshapkina – Dr. Sci. (Agriculture), Professor, Professor of the Department of Plant Protection, <https://orcid.org/0000-0002-8564-8142>, SPIN-code: 4482-1623, beloshapkina@rgau-msha.ru