

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ МОРФОЛОГІЧНИХ ДИСОЦІАНТІВ *PSEUDOMONAS SYRINGAE* *PV. ATROFACIENS*

Л. М. БУЦЕНКО, старший науковий співробітник

Л. А. ПАСІЧНИК, старший науковий співробітник

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України

Ю. В. КОЛОМІЄЦЬ, доцент кафедри екобіотехнології

та біорізнноманіття

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: plant_path@ukr.net

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

Пасічник Л. А. <http://orcid.org/0000-0002-5662-3106>

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

Анотація. За дії пестицидів збільшується частота появи морфологічно відмінних форм у фітопатогенних бактерій виду *Pseudomonas syringae*, що призводить до ускладнень у разі ізоляції збудників та їхньої ідентифікації за ознаками фенотипу. Метою роботи було вивчення біологічних властивостей S- і R-форм збудника базального бактеріозу пшениці *P. syringae* pv. *atrofaciens*. Встановлено, що R-дисоціанти штамів *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011 та *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9780 за фізіолого-біохімічними властивостями не відрізнялися між собою і від вихідної S-форми цих штамів. R-форми *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011 та *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9780 краще формують біоплівку порівняно з S-формою цих штамів, що забезпечує їм конкурентну перевагу під час формування популяцій у фітосфері. Показано, що R-форми не втрачають вірулентних властивостей, які притаманні вихідній S-формі *P. syringae* pv. *atrofaciens*. Збільшення в популяції *P. syringae* pv. *atrofaciens* кількості особин, що характеризуються підвищеною здатністю до формування біоплівки за збереження вірулентних властивостей, може посилювати ризик виникнення епіфітотій, спричинених цим збудником.

Ключові слова: фітопатогенні бактерії, *P. syringae* pv. *atrofaciens*, морфологічні дисоціанти, біоплівки, вірулентність.

Актуальність.

На сьогодні в усьому світі дослідники зазначають усе більш загрозливе розповсюдження та зростання агресивності фітопатогенних бактерій [Sundin G.W., 2016; Abd-Alla M.H., 2011; Ignatov A.N., 2009]. Як одну із причин сплеску бактеріальних хвороб рослин розглядають господарську діяльність людини і, зокрема, широке застосування пестицидів в агроценозах. У наших попередніх дослідженнях було показано, що пестициди, які не мають значної антибактеріальної активності, здатні спричинювати мутагенний вплив на фітопатогенні бактерії та індукувати морфологічну дисоціацію з утворенням R- форм збудника базального бактеріозу пшениці [Butsenko L.M., 2017; Buletsa N.M., 2016].

Ксенобіотики є стрес-фактором, адаптація до якого може супроводжуватися зміною певних властивостей мікроорганізмів. Пристосувальні реакції до дії пестицидів виявляються в різноманітній корекції біохімічних та фізіологічних процесів, що, відповідно, забезпечує їхнє подальше існування за умов такого антропогенного навантаження [Gorbatova O.H., 2006; Stenersen J., 2004].

Одним із варіантів адаптаційних змін бактерій є морфологічна дисоціація клітин і колоній, зумовлена перебудовою поверхневих структур клітин [Milko E.U., 2007]. Дисоціація – це особливий, властивий лише бактеріям тип мінливості, за якого відбувається розщеплення в межах одного виду на S- і R-форми. Це явище вперше досліджували Е. Вейль і А. Фелікс (1917 р).

В основу цього розподілу покладені генетичні перебудови, що

призводять до зміни деяких властивостей (культуральних, антигенних, біохімічних). Так, S-форми (англ. Smooth – гладкий) частіше більш агресивні, володіють добре вираженими антигенними властивостями, мають капсулу, на середовищах утворюють гладкі блискучі колонії. R-форми (англ. Rough – грубий, нерівний) зазвичай менш агресивні, не мають капсули, формують великі шорсткі колонії [Novikov D.K., 2010]. Однак, S-форми є більш агресивними не для всіх видів бактерій. R-форми збудників сибірської виразки, туберкульозу й чуми є вірулентними [Novikov D.K., 2010]. Дисоціація зазвичай протікає в одному напрямку: від S- до R-форми, іноді через проміжні стадії утворення слизових колоній.

На сьогодні вважають, що морфологічна дисоціація бактерій складається з двох процесів: виникнення дисоціантів у результаті зміни генетичних властивостей клітини й селекція утворених варіантів під впливом зовнішніх чинників. Виникнення нових генотипів відбувається на основі спонтанних мутацій, переносу генетичного матеріалу й перебуванні геному всередині однієї клітини [Milko E.U., 2007]. Тобто, дисоціація може відбуватися під час перенесення генетичного матеріалу в процесі кон'югації, трансформації, трансдукції чи фагової конверсії. Але в цих випадках, окрім акцепторної клітини, обов'язкова наявність донора чи ДНК іншої клітини або фага. Це може відбуватися у відкритих системах, які вивчає медична та ґрунтова мікробіологія. Однак, за вирощування чистих культур мікроорганізмів у лабораторних умовах також спостерігають процес морфологічної дисоціації. Вважають, що головна роль у

таких випадках належить мігруючим генетичним елементам: транспозонам, плазмідам, помірним фагам [Milko E.U., 2007]. Якщо мутації, які супроводжують процеси вбудовування в нуклеоїд транспозонів, інсерційних елементів та інше, порушують функцію оперонів, що відповідають за синтез ліпополісахаридів, утворюються R-форми бактерій. Поява R-форм може бути пов'язана з перебудовою в елементах клітинної стінки або полісахаридної капсули зі зміною чи повною відсутністю ферментів біосинтезу цих клітинних структур унаслідок мутації [van den Broek D., 2005]. Такі мутації вважаються плейотропними, оскільки, крім змін у морфології колоній, спостерігається зниження вірулентності та характеру серологічної реакції мутантних форм [Seaton S.C., 2013].

Утворення S- і R-форм найбільш вивчене для збудників інфекційних хвороб людини. Встановлено, що S- та R-форми *Mycobacterium abscessus* характеризуються відмінностями у взаємодії з імунними клітинами макроорганізму, що зумовлює необхідність пошуку лікарських засобів та стратегій, які спрямовані як на знищення внутрішньоклітинної популяції збудника, так і на запобігання утворення ним позаклітинних структур, які дозволяють R-формам *M. abscessus* уникати фагоцитозу [Viljoen A., 2017].

Для фітопатогенних псевдомонасів також характерна природна мінливість популяції з розщепленням на різні морфотипи [Yakovleva L.M., 1978; Muras V.A., 1983]. Вважають, що у *Pseudomonas syringae* спонтанна втрата плазміди (90 МДа) призводить до втрати вірулентності і зміни морфології колоній [Milko E.U., 2007].

Різниці у вірулентних властивостях спонтанних S- та R-форм *P. syringae* не відмічали [Muras V.A., 1983].

Значення дисоціації полягає в отриманні бактеріями селективних переваг, що забезпечують їхнє існування в організмі людини або в зовнішньому середовищі. Відомо, що S-форми більш стійкі до фагоцитозу. R-форми, у свою чергу, більш стійкі до чинників навколишнього середовища.

Отже, явище дисоціації сприяє гетерогенності бактеріальної популяції, підвищує її стійкість, розширює межі виживання виду. Адже дисоціанти відрізняються не лише морфологічно, а й можуть мати відмінності патогенних, вірулентних, біохімічних властивостей [Milko E.U., 1991]. Утворення R-форм бактерій також ускладнює мікробіологічну діагностику спричинюваних ними хвороб [Novikov D.K., 2010; Clark A.E., 2015].

З огляду на це метою нашої роботи було вивчення біологічних властивостей S- та R- форм *Pseudomonas syringae* рв. *atrofaciens*, зокрема їхніх вірулентних властивостей, здатності формувати біоплівки, як одного з механізмів колонізації філосфери.

Матеріали та методи досліджень.

Для здійснення досліджень використані два штами збудника базального бактеріозу пшениці, властивості яких наведено у таблиці 1.

Для отримання спонтанних морфологічних дисоціантів *P. syringae* рв. *atrofaciens* здійснювали розсів суспензії клітин відповідного штаму на картопляний агар (КА). Через 72 години культивування враховували кількість колоній S- та R-форми. Для подальших досліджень відбирали ко-

1. Характеристика штамів *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*

Властивості	Вид, номер штаму	
	<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> УКМ В-1011	<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> 9780
Походження штаму	Українська колекція мікро- організмів	Ізольовано із пшениці с. Подолянка
Серологічна приналежність	Серогрупа II	Серогрупа IV
Агресивність для пшениці	3–4 бали	1–2 бали

лонії S- та R-форми та здійснювали їхній повторний розсів на КА. Через 72 години культивування відбирали стабільні S- та R-форми. Морфологію і структуру колоній бактерій, що виросли на КА в чашках Петрі через кілька днів після посіву вивчали, спостерігаючи за допомогою лупи. Характеризували розмір колоній, форму, структуру й консистенцію, поверхню, профіль, краї, колір тощо [Klement Z., 1990].

Фізіолого-біохімічні властивості вивчали за використання тест системи NEFERMtest24MikroLaTEST®, ErbaLachema.

Для проведення реакції мікроаглютинації на предметне скло, нанесли краплю антисироватки до штаму відповідної серогрупи *P. syringae* у розведенні 1 : 10 або 1 : 20 і краплю фізіологічного розчину. У кожную краплю додавали невелику кількість біомаси бактерій до утворення ледь видимої каламуті. Через 1–2 хв. у разі позитивної реакції спостерігали склеювання бактерій у конгломерати. У контрольній краплі спостерігали лише рівномірну суспензію бактерій, без склеювання [Klement Z., 1990; Patyka V.P., 2017].

Для виявлення здатності бактерій до утворення біоплівки культивували досліджувані штами в 6-лункових поліпропіленових планшетах. У кожную лунку вносили 2 мл картопляного

бульйону (КБ) та додавали 0,5 мл суспензії бактеріальних клітин концентрацією 10^8 КУО/мл. Через 48 год відбирали суспензію планктонних клітин і спектрофотометрично за довжини хвилі 540 нм визначали накопичення біомаси. Біоплівку, що утворилася на дні лунки, обережно промивали 0,85 % розчином хлориду натрію та фіксували 96 %-ним етанолом 10 хв. Фарбували біоплівку водним розчином кристалічного фіолетового. Планшет із забарвленою біоплівкою просушували 24 год за кімнатної температури та здійснювали лізис біоплівки заливаючи в кожную лунку по 2 мл розчину, який містив 0,1 н NaOH і 1 % додецилсульфату натрію (ДСН). Витримували планшети 1,5 год. Інтенсивність формування біоплівки визначали вимірюючи оптичну густину дослідного й контрольного зразків за довжини хвилі 592 нм [Galkin M.B., 2010]. Здатність формувати біоплівку на межі розподілу фаз повітря - рідина визначали візуально за культивування дисоціантів у картопляному бульйоні.

Здатність *P. syringae* індукувати реакцію надчутливості визначали за допомогою метода ін'єкцій-інфільтрацій на листках *Nicotiana tabacum* [Klement Z., 1990]. Для цього під епідерміс листків вводили суспензію клітин дводобових культур досліджуваних штамів бактерій концентраці-

єю 1×10^7 КУО/мл. Суспензію клітин готували на стерильній водогінній воді. Як негативний контроль під епідерміс листків вводили стерильну водогінну воду. Наявність некрозів спостерігали через добу.

Вірулентні властивості S- та R-дисоціантів *P. syringae* pv. *atrofaciens* оцінювали за штучної інокуляції рослин пшениці у фазі трьох – чотирьох справжніх листків у вегетаційному будиночку за природного освітлення у весняний період. Результати штучного зараження враховували за розробленою нами шкалою [Ратука V.P., 2017].

Результати дослідження та їх обговорення.

За культивування штамів фітопатогенних бактерій *P. syringae* pv. *atrofaciens* на картопляному агарі спостерігали утворення колоній двох видів: типової S-форми (гладкі, блискучі, з припіднятим центром і рівними чи слабо хвилястими краями) та видозміненої R-форми колоній (шорсткі, матові, плоскіші та більші, з нерівними краями) (рис.1).



Рис. 1. Колонії R- форми *P. syringae* pv. *atrofaciens* UKM B-1011.

Для *P. syringae* pv. *atrofaciens* частота спонтанної морфологічної дисоціації не перевищувала 10^{-3} , що є характерним для бактерій цього виду. Оскільки, на нашу думку, утворення морфологічних дисоціантів збудника базального бактеріозу пшениці може бути одним із механізмів, що дозволяє фітопатогену краще адаптуватися до сучасних агрофітоценозів, у яких завжди присутні пестициди, необхідно було вивчити біологічні властивості його морфологічних дисоціантів.

Відомо, що морфологічна дисоціація призводить не лише до зміни зовнішнього виду колоній бактерій, а й до зміни їхніх фізіолого-біохімічних властивостей, може впливати на їхню здатність виживати в довкіллі, колонізувати різні поверхні, змінювати вірулентні властивості [Milko E.U., 2007; Tareb R., 2015; Cevallos-Cevallos J.M., 2012].

За вивчення біологічних властивостей морфологічних дисоціантів ми встановили, що R-дисоціанти штамів *P. syringae* pv. *atrofaciens* UKM B-1011 та *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9780 за фізіолого-біохімічними властивостями не відрізнялися між собою і від вихідної S-форми цих штамів (табл. 2). Вони були оксидазонегативними, не редукували нітрати, не утворюють сірководню і індолу. S- та R-форми бактерій незначно відрізняються між собою за утилізацією галактози (табл. 2).

R-форми *P. syringae* pv. *atrofaciens* UKM B-1011 та *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9780 краще формують біоплівку на поліпропіленових планшетах у порівнянні з S-формою цих штамів (табл. 3). Так, маса біоплівки R-форми *P. syringae* pv. *atrofaciens* UKM B-1011 була більша в 3,6 рази, а R-форми *P. syringae* pv. *atrofaciens*

2. Фізіолого-біохімічні властивості S- та R-форм *P. syringae* pv. *atrofaciens*

Тест	<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> УКМ В-1011		<i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> 9780	
	S- форма	R- форма	S- форма	R- форма
Редукція нітратів	—	—	—	—
Утворення індолу	—	—	—	—
Утворення сірководню	—	—	—	—
Оксидаза	—	—	—	—
Уреаза	—	—	—	—
Аргінін	—	—	—	—
Орнітин	+	+	+	+
Лізин	+	+	+	+
Ацетамід	—	—	—	—
β-глюкозидаза	+	+	+	+
N-ацетил-β-D-глюкозаміддаза	—	—	—	—
Цитрат Сімпсона	+	+	+	+
Лактоза	—	—	—	—
Манітол	—	—	—	—
Трегалоза	—	—	—	—
Ксилоза	—	—	—	—
Арабіноза	—	—	—	—
α-галактозидаза	—	—	—	—
β-галактозидаза	—	—	—	—
Малонат	—	—	—	—
Галактоза	—	+	+	—
Мальтоза	—	—	—	—
Целлобіоза	—	—	—	—
Сахароза	+	+	+	+
Інозитол	—	—	—	—
γ-глутамілтрансфераза	+	+	+	+
Фосфатаза	—	—	—	—
Ескулін	+	+	+	+

3. Накопичення біомаси у планктонній культурі та біоплівці S- і R-формами *P. syringae* pv. *atrofaciens*

Досліджувана культура	Накопичення біома- си у планктоні, E540	Біомаса біо- плівки, E592
S-форма <i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> УКМ В-1011	0,65 ± 0,03	0,32 ± 0,04
R-форма <i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> УКМ В-1011	0,58 ± 0,02	1,17 ± 0,19
S-форма <i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> 9780	0,68 ± 0,02	0,42 ± 0,07
R-форма <i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> 9780	0,56 ± 0,01	0,97 ± 0,03

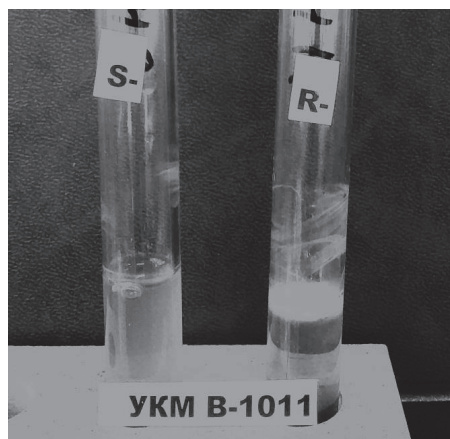


Рис. 2. Біоплівка на межі розподілу фаз повітря – рідина.

9780 – більша у 2,3 раз у порівнянні з масою біоплівки, сформованою S-формою (табл. 3).

Необхідно зазначити, що R-форма *P. syringae* pv. *atrophaciens* UKM B-1011 на відміну від S-форми цього штаму здатна формувати біоплівку на межі розділу фаз повітря – рідина (рис. 2), що також свідчить про підвищену здатність до утворення біоплівок у R-форм збудника базального бактеріозу.

P. syringae добре відомий епіфіт. Він є звичайним мешканцем філосфери й демонструє добру адаптованість до виживання в цій екологічній ніші. Дослідники вважають, що саме великі епіфітні популяції *P. syringae* є первинним інокуломом за інфікування рослин [Tarkowski P., 2014; Hirano S.S., 2000]. Відомо, що однією із характеристик бактерій, які можуть ефективно колонізувати філосферу, є здатність до формування біоплівки на поверхні рослини [Mann E.E., 2012; Dwivedi D., 2017]. Встановлено, що вірулентність штамів *P. syringae* корелює із їхньою здатністю продукувати альгінат, який може бути ос-

новним компонентом біоплівки [Laue H., 2006]. Також важливим для утворення біоплівки є інший полісахарид, що утворюється штамми *P. syringae* – леван [Laue H., 2006]. На думку вчених, відчуття кворуму та утворення біоплівки, разом із рухливістю і здатністю до хемотаксису забезпечує можливість акумулювання поживних речовин та води, що є передумовою успішної колонізації та проживання бактерій у філосфері [Cheng F., 2017; Urooj F., 2015].

За штучної інокуляції рослин пшениці сорту Печерянка S- та R- формою *P. syringae* pv. *atrophaciens* UKM B-1011 виявляли однаковий розвиток симптомів бактеріозу (рис. 3).

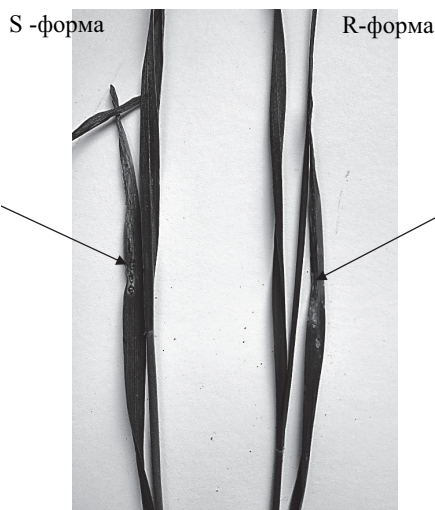


Рис. 3. Симптоми ураження на пшениці сорту Печерянка за штучної інокуляції S- та R-формою *P. syringae*pv. *atrophaciens* UKM B-1011.

Отже, ми встановили, що R-форми не втрачають вірулентних властивостей, які притаманні вихідній S-формі фітопатогенних бактерій виду *P. syringae* pv. *atrophaciens*.

Висновки та перспективи.

Збуднику базального бактеріозу пшениці притаманна морфологічна дисоціація з утворенням видозміненої R-форми колоній (шорсткі, матові, плоскіші та більші, з нерівними краями). S- та R-форми *P. syringae* pv. *atrofaciens* не відрізняються за фізіолого-біохімічними властивостями та вірулентністю. Водночас R-форми цих фітопатогенних бактерій характеризуються підвищеною здатністю до формування біоплівки. На нашу думку, збільшення в популяції *P. syringae* pv. *atrofaciens* кількості особин, що характеризуються підвищеною здатністю до формування біоплівки, може призводити до формування більших популяцій цього збудника на рослинах-хазяїнах та посилювати ризик виникнення епіфітотій. Наявність R-форм у популяції збудника призводить до ускладнень під час діагностики базального бактеріозу.

References

1. Sundin, G.W., Castiblanco, L.F., Yuan, X., Zeng, Q. & Yang, C.H. (2016) Bacterial disease management: challenges, experience, innovation and future prospects: Challenges in Bacterial Molecular Plant Pathology. *Mol Plant Pathol*, 17(9), 1506–1518. DOI:10.1111/mpp.12436.
2. Abd-Alla, M.H. & Bashandy, S.R. (2011) Progress in phytopathogenic bacteria: isolation and characterization. LAP LAMBERT Academic Publishing, 216 p.
3. Ignatov, A.N., Punina, N.V., Matveeva, E.V., Kornev, K.P., Pekhtereva, E.S. & Polityko, V.A. (2009) New causative agents of bacteriosis and the prognosis of their spread in Russia. *Plant Protection and Quarantine*, 4, 38–41.
4. Butsenko, L.M., Pasichnyk, L.A., Buletsa, N.M. & Patyka, V.P. (2017) The effect of the Alpha super insecticide on phytopathogenic bacteria *Pseudomonas syringae* agrophytocenoses of wheat. *Bulletin of agricultural science*, 3, 18–22.
5. Buletsa, N.M., Butsenko, L.M., Pasichnyk, L.A. & Patyka, V.P. (2016) Growth physiology of *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* for the action of pesticides. *Microbiological journal*, 78(3), 52–60.
6. Gorbatova, O.H., Zherdev, A.B. & Queen, O.B. (2006) Triazine pesticides: structure, effect on living organisms, degradation processes. *Advances in biological chemistry*, 46, 323–348.
7. Stenersen J. (2004) Chemical pesticides: mode of action and toxicology. CRC Press LLC, 296 p.
8. Milko, E.U., Kotova, I.S. & Netrusov, A.I. (2007) The process of dissociation in bacteria. M.: MAX Press, 68 p.
9. Novikov, D.K., Generals, I.I., Daniushchenkova, N.M., Zheleznyak, N.V., Kardovich, G.A. & Okulich, V.K. (2010) Medical microbiology with practical skills, situational tasks, control test tasks. Vitebsk: Voronezh State Medical University, 562 p.
10. van den Broek, D., Bloemberg, G.V. & Lugtenberg, B. (2005) The role of phenotypic variation in rhizosphere *Pseudomonas* bacteria. *Environ. Microbiol.*, 7(11), 1686–1697. DOI:10.1111/j.1462-2920.2005.00912.x
11. Seaton, S.C., Silby, M.W. & Levy, S.B. (2013) Pleiotropic effects of GacA on *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1 in vitro and in soil. *Appl Environ Microbiol.*, 79(17), 5405–5410. DOI: 10.1128/AEM.00819-13
12. Viljoen, A., Herrmann, J.-L., Onajole, O.K., Stec, J., Kozikowski, A.P. & Kremer, L. (2017) Controlling extra- and intramacrophagic *Mycobacterium abscessus* by targeting mycolic acid transport. *Front Cell Infect Microbiol.*, 7, 388. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00388

13. Yakovleva, L.M., Pastushenko, L.T., Simonovich, I.V. & Stepanyuk, B.B. (1978) Dissociation of some phytopathogenic bacteria of the genus *Pseudomonas*. *Microbiol. Journal*, 40(5), 596–600.
14. Muras, V.A., Gvozdyak, R.I., Zhitkevich, N.V. & Azimtsev, A.G. (1983) The natural variability of the morphological, biochemical, and pathogenic properties of collection cultures of phytopathogenic bacteria. *Microbiol. Journal*, 45(5), 36–42.
15. Milko, E.U. & Egorov, N.A. (1991) The heterogeneity of the bacterial population and the process of dissociation. M.: Publishing House of Moscow State University, 144 p.
16. Clark, A.E. (2015) The occupational opportunist: an update on *Erysipelothrix rhusiopathiae* infection, disease pathogenesis, and microbiology. *Clinical Microbiology Newsletter*, 37(18), 143–151. <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2015.09.001>
17. Klement, Z., Rudolph, K. & Sands, D. (1990) *Methods in phytobacteriology*. Budapest: Academia Kiado, 568 p.
18. Patyka, V. P. (Ed) (2017) *Fitopatohenni bakterii. Metody doslidzhennia. [Phytopathogenic bacteria. Research methods]* Vinnytsia: TOV Vindruk, 432 p.
19. Galkin, M.B., Vodzinsky, S.V., Kirichenko, G.M. & Ivanitsa, P.O. (2010) Peculiarities of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 biofilm formation under the dark and photo-induced effects of bismuth-room porphyrins. *Microbiology and biotechnology*, 3, 51–60.
20. Tareb, R., Bernardeau, M., Horvath, P. & Vernoux, J.P. (2015) Rough and smooth morphotypes isolated from *Lactobacillus farciminis* CNCM I-3699 are two closely-related variants. *Int. J. Food Microbiol.*, 193(16), 82–90. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2014.08.036
21. Cevallos-Cevallos, J.M., Gu, G., Danyluk, M.D. & van Bruggen, A.H. (2012) Adhesion and splash dispersal of *Salmonella enterica* typhimurium on tomato leaflets: effects of rdar morphotype and trichome density. *Int. J. Food Microbiol.*, 160(1), 58–64. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2012.09.021
22. Tarkowski, P. & Vereecke, D. (2014) Threats and opportunities of plant pathogenic bacteria. *Biotechnology Advances*, 32, 215–229. DOI:10.1016/j.biotechadv.2013.11.001
23. 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, 624–653. DOI:10.1128/mmbr.64.3.624-653.2000
24. Mann, E.E. & Wozniak, D.J. (2012) *Pseudomonas* biofilm matrix composition and niche biology. *FEMS Microbiol Rev.*, 36(4), 893–916. DOI:10.1111/j.1574-6976.2011.00322.x.
25. Dwivedi, D., Khare, M., Chaturvedi, H. & Singh, V. (2017) Plant pathogenic bacteria: role of quorum sensing and biofilm in disease development. In: *Biofilms in plant and soil health*, first edition. Edited by Iqbal Ahmad and Fohad Mabood Husain. John Wiley & Sons Ltd., 387–407. DOI:10.1002/9781119246329.ch20
26. Laue, H., Schenk, A., Li, H., Lambertsen, L., Neu, T.R., Molin, S. & Ullrich, M.S. (2006) Contribution of alginate and levan production to biofilm formation by *Pseudomonas syringae*. *Microbiology*, 152, 2909–2918. <https://doi.org/10.1099/mic.0.28875-0>
27. Cheng, F., Ma, A., Luo, J., Zhuang, X. & Zhuang, G. (2017) N-acylhomoserine lactone-regulation of genes mediating motility and pathogenicity in *Pseudomonas syringae* pathovar *tabaci* 11528. *Microbiologyopen*, 6(3), e00440. DOI:10.1002/mbo3.440.
28. Urooj, F. & Senthil-Kumar, M. (2015) Plant and pathogen nutrient acquisition strategies. *Frontiers in Plant Science*, 6, 750. DOI:10.3389/fpls.2015.00750

L.M. Butsenko, L.A. Pasichnyk, Y.V. Kolomiets (2020). BIOLOGICAL PROPERTIES OF MORPHOLOGICAL DISSOCIANTS PSEUDOMONAS SYRINGAE PV.

ATROFACIENS. BIOLOGICAL SYSTEMS: THEORY AND INNOVATION, 11(1): 28-37.

<http://journals.nubip.edu.ua/>.

<https://doi.org/10.31548/biologiya2020.01.028>

Abstract. Annotation. Under the action of pesticides, the frequency of occurrence of morphologically different forms in phytopathogenic bacteria of the species *Pseudomonas syringae* increases, which leads to complications in the isolation of pathogens and their identification by phenotype. The aim of the work was to study the biological properties of S- and R-forms of the causative agent of basal wheat bacteriosis *P. syringae* pv. *atrofaciens*. It was established that R-disociants of *P. syringae* pv. *atrofaciens* UKM B-1011 and *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9780 in physiological and biochemical properties did not differ from each other and from the initial S-form of these strains. R-forms of *P. syringae* pv. *atrofaciens* UKM B-1011 and *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9780 better forms a biofilm compared to the S-form of these strains, provides them with a competitive advantage in the formation of populations in the phyllosphere. It was shown that the R-forms do not lose the virulent properties inherent in the original S-form of *P. syringae* pv. *atrofaciens*. An increase in the population of *P. syringae* pv. *atrofaciens* the number of individuals characterized by an increased ability to form biofilms while maintaining virulent properties, may increase the risk of epiphytotic caused by this pathogen.

Keywords: phytopathogenic bacteria, *P. syringae* pv. *atrofaciens*, morphological dissociants, biofilms, virulence
