

АНОТАЦІЯ

Грицева Н.Г. Етіологічна характеристика бактеріальних гнилей картоплі (*Solanum Tuberosum* L.) в Україні та розробка методів їх діагностики. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 «Біологія» (09 – Біологія) – Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, 2024.

Картопля займає одну з провідних позицій серед основних сільськогосподарських культур в Україні через її важливе стратегічне значення, а валовий урожай культури дозволяє утримувати лідуєче місце серед світових виробників. За даними Продовольчої та сільськогосподарської організації ООН, Україна в останні роки зміцнила свої позиції серед світових виробників картоплі та входить до трійки лідерів з часткою більше 5% її виробництва. Однак, незважаючи на наявність родючих ґрунтів та сприятливих агрокліматичних умов, урожайність картоплі в Україні більше ніж у 3 рази поступається аналогічним показникам розвинутих країн Європи та США. Серед багатьох чинників, що впливають на кількісні та якісні показники урожаю картоплі, фітопатогенні бактерії займають одне з провідних місць, через спричинені втрати, що можуть досягати до 50% у сприятливі роки. Серед основних збудників бактеріальних інфекцій картоплі виокремлюють комплекс видів *Ralstonia solanacearum*, представників пектолітичних бактерій родів *Pectobacterium* і *Dickeya* та представника коринформних бактерій *Clavibacter sepedonicus*. Комплекс видів *R. solanacearum* згрупував у собі нещодавно виокремлені види, що викликають гнилі широкого спектру рослин-господарів та віднесені Європейською Організацією Захисту і Карантину Рослин до переліку карантинних організмів, що наносять значних економічних збитків як через прямі втрати врожаю, так і через жорсткі карантинні заходи, що унеможлиблюють виробництво картоплі. Пектолітичні бактерії родів *Pectobacterium* і *Dickeya*, володіючи обширним пулом факторів патогенності, поширені у всьому світі та призводять до загнивання широкого спектру цінних сільськогосподарських культур. Серед пектолітичних бактерій, основним, але не

єдиним, етіологічним збудником м'якої гнилі бульб та чорної ніжки у полі і досі залишається *Pectobacterium atrosepticum*, що на відміну від інших представників даної групи, уражує значно менше коло рослин-господарів, серед яких чільне місце посідає картопля. Коринформна бактерія *Clavibacter sepedonicus*, що викликає кільцеву гниль, як і представник пектолітичних бактерій- збудників інфекцій картоплі, поширений у світі, однак в основному призводить до непрямих втрат, що спричинені вибраковуванням ураженого врожаю та впровадженням карантинних заходів, що засновані на забороні вирощування картоплі. Дослідження поширеності бактеріальних збудників та володіння інформацією стосовно етіологічної структури інфекцій відіграє важливу роль у розумінні епідеміологічної ситуації та виборі необхідних фітосанітарних та карантинних заходів для мінімізації їх розвитку та поширення посівними площами.

Саме тому метою роботи була детекція латентного поширення фітопатогенних бактерій - збудників м'якої *Pectobacterium atrosepticum* та кільцевої *Clavibacter sepedonicus* гнилей у різних кліматичних умовах взаємодії господар : паразит та удосконалення методів їх діагностики. Для виконання поставленої мети були використані мікробіологічні (культивування колекційних штамів фітопатогенних мікроорганізмів), фітопатологічні (штучне ураження бульб картоплі для оцінки стійкості сортів картоплі до збудників бактеріальних гнилей картоплі), фізико-хімічні (виділення ДНК, електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації), молекулярно-генетичні (проведення ПЛР та ПЛР у реальному часі), імунохімічні (проведення сендвіч-варіанту ELISA) та статистичні методи досліджень.

На першому етапі нашої роботи проводили дослідження поширеності збудників м'якої та кільцевої гнилей в урожаї картоплі на території України, використовуючи сертифіковані тест-системи ІФА. Для цього були відібрані бульби картоплі урожаїв 2020 та 2021 років з 8-ми областей України, включаючи: Одеську, Київську, Донецьку, Херсонську, Черкаську, Миколаївську, Дніпропетровську та Житомирську області. Збудники м'якої та кільцевої гнилей були виявлені у врожаї практично всіх областей, окрім Одеської, де збудник

м'якої гнилі не був виявлений, та Херсонської і Житомирської областей, де збудник кільцевої гнилі не детектувався у врожаї 2020 року. Найвищий показник ураження м'якою гниллю *P.atrosepticum* було виявлено у Миколаївській області, у той час як збудник кільцевої гнилі *C. sepedonicus* домінував у Київській та Дніпропетровській областях. Змішана інфекція була поширена серед половини досліджуваних областей, однак не перевищувала 5%.

У 2021 році розподіл збудників бактеріальних інфекцій в усіх областях характеризувався збільшенням ураження пектолітичними бактеріями вдвічі у порівнянні з 2020 роком, окрім Дніпропетровської області, де показники поширення були подібними. Найвищі показники виявлення збудників як кільцевої, так і м'якої гнилі було зареєстровано у Донецькій області, де також спостерігався найвищий показник змішаної інфекції серед інших досліджуваних областей. Таким чином, у ході нашого дослідження збудники бактеріальних гнилей виявлялись у досліджуваних областях з різною інтенсивністю. Однак, слід відмітити, що на обстежених виробничих ділянках спектр вирощуваних сортів картоплі протягом 2-х років практично не змінювався. Відтак, маючи подібні сорти картоплі на тих же територіях, значний перерозподіл поширення м'якої гнилі картоплі у 2021 році міг бути спричинений змінами кліматичних умов, які відбувались протягом року та стали більш сприятливими для оптимального розвитку патогенів.

З огляду на вище зазначене, на другому етапі дослідження для перевірки даного припущення було зібрано помісячні базові кліматичні показники, такі як температура повітря та кількість опадів у період виробництва картоплі. На основі вже наявних показників були розраховані додаткові кліматичні індекси а саме: середні значення температури та вологості для окремих періодів виробництва картоплі, середньорічну температуру та кількість опадів, амплітуди температурних показників та опадів, а також гідротермічний коефіцієнт Селянінова, що об'єднує в собі як температурні показники так і кількість опадів.

Для виявлення взаємозв'язку між описаними вище кліматичними показниками та поширенням гнилей картоплі використовували кореляційний аналіз Спірмена. Результати кореляційного аналізу вказали на сильний

позитивний зв'язок між латентним інфікуванням бульб збудником м'якої гнилі *P.atrosepticum* та показником суми опадів і гідротермічним коефіцієнтом Селянінова, у вегетаційний період культури. Також була виявлена сильна негативна кореляція між середньодобовою температурою у період збирання врожаю та поширеністю *P.atrosepticum*. У випадку збудника кільцевої гнилі *C. sepedonicus* була виявлена лише помірна кореляція між поширенням та середньодобовою температурою протягом періоду садіння. Отримані результати вказують на те, що умови навколишнього середовища, а саме температура та вологість відіграють істотну роль у поширенні збудника м'якої гнилі *P. atrosepticum*, у порівнянні зі збудником кільцевої гнилі *C. sepedonicus*.

Як зазначено в описі трикутника хвороб у фітопатології, лише наявність вірулентного патогену, оптимальних умов зовнішнього середовища та сприйнятливої рослини-господаря можуть гарантувати розвиток інфекційного процесу. Збільшення поширеності збудника м'якої гнилі *P. atrosepticum* серед досліджуваних областей, де культивувались подібні сорти картоплі, для більшості з яких виробником була зазначена висока стійкість до чорної ніжки, актуалізувала необхідність дослідити чутливість поширених на території України сортів картоплі до музейного штаму типового збудника м'якої гнилі *P. atrosepticum* B-1084^T. У ході експерименту поверхнево стерилізовані бульби поширених сортів картоплі інфікували стандартизованою суспензією бактеріальних клітин та інкубували протягом відведеного часу. Для оцінки ураження аналізували площу мацерації та масу мацерованих тканин бульб картоплі. У результаті нами було виявлено, що найбільш чутливим до використаного штаму *P. atrosepticum* B-1084^T виявився сорт Riviera, для якого виробником зазначено середньо-високу стійкість до чорної ніжки. Сорт Picasso, який, згідно даних селекціонера, має низьку стійкість до чорної ніжки, проявив вищий ступінь стійкості у порівнянні з сортами Bellarosa і Queen Anne, які, згідно даних виробника, мають високу стійкість до чорної ніжки. Також було відмічено, різницю у ступені ураження одних і тих самих сортів, культивованих у різних агрокліматичних регіонах, з вищими показниками площі мацерації та маси мацерованих тканин для бульб, вирощених на півдні України. Виявлений

взаємозв'язок між поширенням пектолітичних бактерій і кліматичними умовами та наукові публікації щодо питань впливу змін клімату на циркуляцію та патогенність збудників інфекційних процесів у сільськогосподарських культурах спонукали до проведення додаткового експерименту щодо впливу підвищеної температури (30°C) на стійкість обраних сортів картоплі до *P. atrosepticum*. У даному випадку, для всіх аналізованих сортів було виявлено збільшення ступеню ураження в середньому у 1,5 рази, за виключенням сорту Queen Anne, який не продемонстрував змін в ураженні бульб. Отримані нами дані вказують на те, що генетичний потенціал стійкості сорту картоплі до чорної ніжки не є визначальним фактором, що впливає на розвиток хвороби. Літературні дані вказують, що кліматичні умови та кількісні і якісні характеристики складових ґрунту сільськогосподарських угідь, у т.ч. ґрунтової мікробіоти, також можуть відігравати важливу роль у протіканні інфекцій.

Літературні дані щодо поширення на території України, здатність викликати м'яку гниль картоплі та широке коло додаткових рослин-господарів у сукупності спричинили необхідність розробки методу детекції *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. На початковому етапі підібрали та розробили специфічні праймери до внутрішнього транскрибованого спейсеру 16S-23S рРНК, які при тестуванні з тотальною ДНК фітопатогенних бактерій утворювали амплікони лише з цільовою матрицею штамів *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. Іншим відкритим питанням у виявленні бактеріальних гнилей картоплі залишався протокол ПЛР детекції комплексу видів *R. solanacearum*, що викликають буру гниль картоплі. У нашому дослідженні рекомендована пара праймерів для детекції комплексу видів *R. solanacearum* запропонована Seal et al. давала значно менший продукт ампліфікації, ніж описаний у наданому протоколі, що спонукало до розробки власних праймерів до консенсусної послідовності 16S рРНК. Розроблені праймери при перехресному дослідженні синтезували амплікони з теоретично розрахованою кількістю пар нуклеотидів лише з генетичним матеріалом цільових бактерій. Розробка високоспецифічних пар праймерів для детекції *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* та комплексу видів *R. solanacearum* дозволила надалі розробити ДНК-зонди для кількісного

визначення бактеріальних патогенів методом ПЛР у реальному часі, використовуючи калібрувальні криві з серій десятикратних розведень тотальної ДНК цільового патогену. Розроблений протокол детекції ПЛР у реальному часі для *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* був використаний у лабораторному дослідженні бульб урожаю 2021 року на наявність латентної інфекції. Аналіз поширеності аналізованого збудника у досліджуваних бульбах з Київської та Одеської областей, вказує на переважання патогену більше ніж у 3,5 рази для Одеської області у порівнянні з даним показником у Київській області. Така відмінність у поширенні *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* у різних областях України може бути спричинена погодно-кліматичними умовами на даних територіях, що нами було виявлено для іншого представника пектолітичних бактерій *P. atrosepticum*.

Таким чином, у ході дисертаційного дослідження було оновлено дані поширеності збудників бактеріальних гнилей на території України. Вперше в Україні, встановлено зв'язок між поширенням *Pectobacterium atrosepticum* та *Clavibacter sepedonicus* і кліматичними умовами, що реєструвались у період посадки, вегетації та збору урожаю. У лабораторних експериментах досліджено стійкість поширених на українських територіях сортів картоплі до типового збудника чорної ніжки та м'якої гнилі картоплі і показано підвищену чутливість бульб картоплі до *Pectobacterium atrosepticum* за підвищеної температури інкубації. Оптимізовано та розроблено протоколи детекції методами класичної ПЛР та ПЛР у реальному часі для комплексу видів *Ralstonia solanacearum* та *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*.

Ключові слова: бактеріальні хвороби, картопля, бактерії, погодні умови, кільцева гниль, стрес, *Clavibacter sepedonicus*, клімат, мікст-інфекція, ідентифікація, м'яка гниль, комплекс видів *Ralstonia solanacearum*, *Pectobacterium atrosepticum*, *Solanum tuberosum*.

ABSTRACT

Hrytseva N.H. Etiological characteristics of infectious diseases of potato (*Solanum tuberosum* L.) in Ukraine and development of methods of their diagnostics. – Qualification scientific work on the rights of the manuscript.

Thesis for PhD (Doctor of Philosophy) degree in biological sciences in speciality 091-Biology. – Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2024.

Potatoes are one of the leading crops in Ukraine due to their strategic importance, and the gross harvest of the crop allows Ukraine to maintain a leading position among global producers. According to the Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Ukraine has strengthened its position among global potato producers in recent years and is among the top three with a share of more than 5% of its production. However, despite having fertile soils and favorable agro-climatic conditions, potato yields in Ukraine are more than 3 times lower than in developed countries in Europe and the US. Among the many factors affecting the quantitative and qualitative performance of the potato crop, phytopathogenic bacteria are one of the leading causes of losses, which can reach up to 50% in favorable years.

Ralstonia solanacearum species complex, pectolytic bacteria of the genera *Pectobacterium* and *Dickeya*, and the pleomorphic bacteria of *Clavibacter sepedonicus* are the main causative agents of bacterial infections in potatoes. *R. solanacearum* species complex includes recently identified species that cause rotting in a wide range of host plants, and the complex has been assigned by the European and Mediterranean Plant Protection Organization as quarantine organisms resulting in significant economic losses, both through direct and indirect crop damage that hinder potato production. Pectolytic bacteria of the genera *Pectobacterium* and *Dickeya*, possessing a wide pool of pathogenicity factors, are widespread throughout the world and cause decay of a wide range of valuable crops. Among the pectolytic bacteria, *Pectobacterium atrosepticum* remains the main, but not the only, etiological agent of soft rot of tubers and blackleg in the field, which, unlike other members of this group, affects a much smaller range of host plants, among which potatoes are the most important. The coryneform bacterium *Clavibacter sepedonicus*, which causes ring rot,

as well as a representative of pectolytic bacteria causing potato infections, is widespread in the world, but mainly leads to indirect losses caused by the rejection of the affected crop and the introduction of quarantine measures based on the ban on potato cultivation. The study of the prevalence of bacterial pathogens and the knowledge of the etiological structure of infections plays an important role in understanding the epidemiological situation and selecting the necessary phytosanitary and quarantine measures to minimize their development and spread through the crop area.

Therefore, the work was aimed to study the prevalence of the main causative agents of bacterial potato rots in Ukraine and to develop the methods of their molecular detection. To conduct the study, we applied microbiological (cultivation of phytopathogenic microorganisms), phytopathological (artificial infection of potato tubers to assess the resistance of potato varieties to causative agents of bacterial rot), physicochemical (DNA isolation, electrophoretic separation of amplification products), molecular (PCR and real-time PCR), immunochemical (conducting ELISA in a sandwich format), and statistical methods.

In the first stage of the research, the prevalence of the causative agents of soft and ring rot in potato harvests in Ukraine was explored using certified serological test systems. For this purpose, potato tubers from the 2020 and 2021 harvests from 8 regions of Ukraine, including Odesa, Kyiv, Donetsk, Kherson, Cherkasy, Mykolaiv, Dnipropetrovsk, and Zhytomyr regions, were sampled. The causative agents of soft and ring rots were detected in the tubers from all regions, except the Odesa region, where the causative agent of soft rot was not detected, and the Kherson and Zhytomyr regions, where the causative agent of ring rot was not detected in the 2020 potato harvest. The highest incidence of soft rot caused by *P. atrosepticum* was detected in the Mykolaiv region, while the ring rot pathogen *C. sepedonicus* dominated in the Kyiv and Dnipropetrovsk regions. Mixed infection was prevalent in half of the analyzed regions, but didn't exceed 5%. In 2021, the distribution of bacterial infection agents was characterized by a double increase of pectolytic bacteria compared to 2020, except for the Dnipropetrovsk region, where the distribution of bacteria was similar to previous year. The highest rates of detection of both ring and soft rot pathogens were

recorded in Donetsk region, which also had the highest rate of mixed infection among the other regions studied.

Thus, in the course of our study, bacterial rot pathogens were detected in the surveyed regions with varying intensity. However, it should be noted that the range of potato varieties grown in the surveyed production plots has not changed over the past 2 years. Therefore, having similar potato varieties in the same areas, a significant redistribution of the spread of soft rot in 2021 could be caused by changes in climatic conditions that occurred during the year and became more favorable for the optimal development of pathogens.

In view of the above, at the second stage of the study, monthly climatic indicators, such as air temperature and precipitation during the potato production period, were collected to test this assumption. Additional climatic indices were calculated using these basal indicators, such as mean temperature and humidity for specific periods of potato production, annual average temperature and rainfall, temperature, and rainfall amplitudes, and the Selyaninov hydrothermal coefficient, which combines temperature and rainfall indicators.

A Spearman correlation was conducted to examine the relationship between the aforementioned climatic indicators and the spread of causative agents of potato rots. The results of the analysis revealed a strong positive correlation between latent infection of potato tubers with the soft rot pathogen *P. atrosepticum* and the sum of rainfall and the Selyaninov hydrothermal coefficient during the potato growing season. A strong negative correlation was detected between the average daily temperature during the harvest season and the prevalence of *P. atrosepticum*. A moderate correlation was also found between the ring rot pathogen *C. sepedonicus* prevalence and the average daily temperature during the potato planting season. These results indicate that environmental conditions, particularly temperature and humidity, play more significant role in the spread of the soft rot pathogen *P. atrosepticum* as compared to the ring rot pathogen *C. sepedonicus*.

According to the disease triangle - a commonly accepted paradigm in plant pathology - only the presence of a virulent pathogen, optimal environmental conditions and a susceptible host plant can guarantee the development of the infection process.

The increase in the prevalence of the soft rot pathogen *P. atrosepticum* among the studied regions where similar potato varieties were cultivated, most of which were reported by the manufacturer to be highly resistant to blackleg, necessitated investigating the sensitivity of potato varieties common in Ukraine to the museum strain of the typical soft rot pathogen *P. atrosepticum* B-1084^T. During the experiment, surface-sterilised tubers of common potato varieties were infected with a standardized suspension of bacterial cells and incubated for the allotted time.

To assess the damage, the area of maceration and the weight of macerated tissues of potato tubers were analyzed. As a result, we found that the variety Riviera, which is reported by the manufacturer to have medium-high resistance to blackleg, was the most sensitive to the *P. atrosepticum* B-1084^T strain. The Picasso variety, which according to the breeder has low resistance to blackleg, showed a higher degree of resistance compared to the Bellarosa and Queen Anne varieties, which according to the manufacturers have high resistance to blackleg. There was also a difference in the degree of damage of the same varieties cultivated in different agroclimatic regions, with higher maceration area and macerated tissue weight for tubers grown in southern Ukraine. The identified relationship between the spread of pectinolytic bacteria and climatic conditions along with literature data concerning the impact of climate change on the circulation and pathogenicity of infectious agents in crops prompted an additional experiment to investigate the effect of elevated temperature (30°C) on the resistance of selected potato varieties to *P. atrosepticum*. In this case, for all the analyzed varieties, an increase in the degree of damage was found by an average of 1.5 times, with the exception of the Queen Anne variety, which did not show any changes in tuber damage under elevated temperature. Our data indicate that the genetic potential for resistance of a potato variety to blackleg is not a determining factor in the development of the disease. Literature data indicate that climatic conditions as well as quantitative and qualitative characteristics of soil components, including soil microbiota, can also play an important role in the course of infections.

The literature data on the prevalence of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* in Ukraine, its ability to cause soft rot of potatoes, and a wide range of additional host plants necessitated developing methodology for the detection of this

pathogen. At the initial stage, specific primers were selected and developed for the internal transcribed spacer of 16S-23S rRNA, which, when tested with total DNA of phytopathogenic bacteria, formed amplicons only with the target matrix of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. Another unresolved issue in the detection of bacterial potato rots was the PCR protocol for the detection of the *Ralstonia solanacearum* species complex, which causes brown rot in potato. In our study, the recommended pair of primers for detection of the *R. solanacearum* species complex proposed by Seal et al. gave a significantly lower amplification product than that described in the provided protocol, which prompted us to develop our own primers for the consensus 16S rRNA sequence. The developed primers synthesized amplicons with the theoretically calculated number of base pairs only with the genetic material of the target bacteria during the cross-validation. The development of highly specific primer pairs for the detection of *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* and *R. solanacearum* species complex allowed further development of DNA probes for the quantitative detection of bacterial pathogens by real-time PCR using calibration curves from a series of tenfold dilutions of total DNA of the target pathogens.

The developed real-time PCR detection protocol for *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* was used in the laboratory testing of tubers from the 2021 harvest for the presence of latent infection. The analysis of the prevalence of the pathogen in the tested tubers from Kyiv and Odesa regions indicates that the occurrence of the pathogen is more than 3.5 times higher in Odesa region compared to the same indicator in Kyiv region. Such a difference in the distribution of *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* in different regions of Ukraine may be caused by different weather conditions in these areas, which we found for another representative of pectolytic bacteria *P. atrosepticum*.

Thus, in the course of the dissertation research, the data on the prevalence of bacterial rot pathogens in Ukraine were updated. For the first time in Ukraine, a link was established between the spread of *Pectobacterium atrosepticum* and *Clavibacter sepedonicus* and climatic conditions recorded during planting, vegetation and harvesting seasons. In laboratory experiments, the resistance of potato varieties common in the Ukrainian territories to the typical pathogen of blackleg and soft rot of potatoes was investigated and the increased sensitivity of potato tubers to

Pectobacterium atrosepticum at elevated incubation temperature was shown. The detection protocols by classical and real-time PCR were optimized and developed for the *Ralstonia solanacearum* species complex and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*.

Key words: bacterial diseases, potato, bacteria, weather conditions, ring rot, stress, *Clavibacter sepedonicus*, climate, mix-infection, identification, soft rot, *Ralstonia solanacearum* species complex, *Pectobacterium atrosepticum*, *Solanum tuberosum*.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА

Праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. N. Hrytseva, "Development of specific primers for 16s rRNA gene analysis in the detection of *Ralstonia solanacearum* SPECIES COMPLEX", *Biotechnol. Acta* 15(3), 5–12 (2022). <https://doi.org/10.15407/biotech15.03.005> (*Особистий внесок здобувача – пошук інформації, дизайн дослідження, проведення експерименту, написання рукопису, підготовка статті до друку*)
2. N. G. Hrytseva та L. M. Skivka, "Prevalence of causative agents of ring rot *clavibacter sepedonicus*, blackleg and wet rot *pectobacterium atrocepticum* in the 2021 year potato harvest in the territory of ukraine", *Microbiology&Biotechnology* 2023(1(57)), 6–17. [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2023.1\(57\).274279](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2023.1(57).274279) (*Особистий внесок здобувача – розробка концепції, проведення дослідження, обробка даних, написання рукопису, підготовка статті до друку*)
3. N. G. Hrytseva та L. M. Skivka, "Latent infestation of potato tubers with soft rot and ring rot pathogens under changing weather conditions in ukraine", *Mikrobiolohichniy Zhurnal* 85(6), 26–40 (2023). <https://doi.org/10.15407/microbiolj85.06.026> (*Особистий внесок здобувача – розробка концепції та проведення дослідження, аналіз даних, статистична обробка даних, написання рукопису, підготовка статті до друку*)
4. N. Hrytseva, T. Babych, A. Andriienko, K. Rubanik та Y. Yumyna, "Assessment of resistance to the pathogen of soft rot and blackleg common in ukraine potato varieties", *Bull. Taras Shevchenko National Univ. Kyiv. Ser.* 95(4), 39–44 (2023). <https://doi.org/10.17721/1728.2748.2023.95.39-44> (*Особистий внесок здобувача – дизайн дослідження, інокуляція збудником, написання рукопису, підготовка статті до друку*)

Статті у інших виданнях:

5. Воробйова Н. Чистий насіннєвий матеріал як запорука гарного врожаю, *Майстерня аграрія*, №3, 98-103 (2020).

Опубліковані праці апробаційного характеру:

6. Грицева Н.Г., Сківка Л.М. Нові підходи в детекції комплексу видів *Ralstonia solanacearum* на основі 16s РНК». Біологічні процеси оптимізації продукційного процесу культурних рослин: матеріали Всеукраїнської науково-практичної онлайн-конференції, присвяченої 60-річчю ІСМАВ НААН, 2021, 176 с.
7. N. Hrytseva. Development of real-time pcr to detect *Ralstonia solanacearum* species complex based on 16s RNA. IV International Scientific Conference «Microbiology and Immunology– the development outlook in the XXI Century», 2022. 106 p.
8. Грицева Н.Г., Сківка Л.М. Поширення *Pectobacterium atrosepticum* та *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* в урожаї картоплі на півдні України у 2021 році. Біологічні дослідження – 2022: за матеріалами XIII Всеукраїнської науково-практичної конференції, 2022, 300 с.
9. Грицева Н.Г., Сківка Л.М. Аналіз поширення кільцевої гнилі та м'якої гнилі в урожаї бульб картоплі на території Львівської області у 2022 році, Молодь і поступ біології: за матеріалами XIX Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів «МОЛОДЬ І ПОСТУП БІОЛОГІЇ», присвячена 90-річчю від дня народження академіка НАН України, професора Шеляга-Сосонка Юрія, 2023, 238 с.
10. Грицева Н.Г., Сківка Л.М. Порівняльний аналіз поширення збудників чорної ніжки та м'якої гнилі картоплі *Pectobacterium atrosepticum* та *Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum* в урожаї картоплі 2021 року, Мікробіологія в сучасному сільськогосподарському виробництві: матеріали XVI наукової конференції молодих учених, 2023. 162 с.
11. Hrytseva N., Babych T., Andriienko A., Rubanik K., Skivka L., Yumyna J. Susceptibility of Bellarosa and Riviera potato varieties from different regions to the *Pectobacterium atrosepticum* B-1084T, The International Scientific and Practical Conference Kyiv, Ukraine "MODERN ASPECTS OF MICROBIOLOGY, VIROLOGY, AND BIOTECHNOLOGY IN WARTIME AND POST-WAR PERIOD", 2023. 299 p.