

ОЦЕНКА БАКТЕРИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ФУНГИЦИДА РИДОМИЛ ГОЛД Р ПРОТИВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЧЕРНОЙ НОЖКИ КАРТОФЕЛЯ

А.А. ДАЦЮК, Ф.С.-У. ДЖАЛИЛОВ

(Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева)

С целью разработки мер защиты картофеля от черной ножки проведена оценка бактерицидного действия фунгицида Ридомил Голд Р, ВДГ. Тестирование проводили на трех изолятах фитопатогенных бактерий возбудителей черной ножки картофеля: *Dickeya chrysanthemi* (DSM 4610, Германия), *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* (РФ, Омская область), *Pectobacterium wasabiae* (РФ, Кемеровская область). Оценку проводили *in vitro* путем подсчета колоний бактерий, посеянных на среду КГА с добавлением фунгицида в концентрациях 0,1; 0,2; 0,4; 0,6 и 1% по препарату. Установлено, что фунгицид Ридомил Голд Р показывает 100%-ную биологическую эффективность по отношению ко всем исследуемым штаммам бактерий уже при концентрации препарата в среде 0,2% ($LD_{100} = 0,2\%$). Дополнительно была проведена серия опытов с применением метода отпечатков листьев картофеля, обработанных бактериальной суспензией патогенов, на питательную среду с добавлением 1%-ного рабочего раствора фунгицида. Показано, что кратковременный контакт препарата с эпифитной популяцией листа картофеля приводит к полной гибели бактерий.

Ключевые слова: болезни растений, черная ножка картофеля, фунгициды, Ридомил Голд Р, *Dickeya chrysanthemi*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis*, *Pectobacterium wasabiae*.

Введение

Черная ножка картофеля и ассоциированные с ней мягкие гнили клубней являются одними из наиболее опасных бактериальных заболеваний картофеля, вызываемых различными видами пектолитических бактерий из родов *Pectobacterium* (ранее – *Erwinia*) и *Dickeya*. Эти близкородственные граммотрицательные энтеробактерии продуцируют ряд ферментов пектиназ [23, 32], под действием которых происходит разрушение клеточной стенки растений с последующей обширной мацерацией растительных тканей.

Представители обоих вышеупомянутых родов, помимо картофеля, поражают множество других овощных, плодовых и декоративных культур во всем мире. В связи с этим они были внесены в топ-10 основных бактериальных патогенов растений, ограничивающих урожайность и качество сельскохозяйственных культур [5, 19]. Например, *Dickeya chrysanthemi* вызывает заболевание у самых разных растений-хозяев [18, 25], включая 16 семейств двудольных растений в 11 порядках и 10 семейств однодольных в 5 порядках [18].

Несмотря на то, что первые упоминания о данных возбудителях на картофеле были зарегистрированы еще в 1972 г. в Нидерландах [26], на территории Российской Федерации эти фитопатогенные микроорганизмы были обнаружены лишь

в 2009 г. [31]. Однако за последние 10 лет оба заболевания достигли колоссальных масштабов вредоносности, принося год за годом все больший недобор урожая в хозяйствах по всей стране. Так, в период с 2009 по 2013 гг. процент встречаемости возбудители черной ножки *Dickeya dianthicola* и *Dickeya solani* на клубнях картофеля увеличивался вдвое каждый год и повысились с 4 до 30% [29]. Среди возможных причин столь активного распространения заболевания можно выделить три, наиболее распространенные.

Первая причина связана с глобальным изменением климата и, как следствие, с ежегодным повышением среднегодовой температуры, что является наиболее благоприятным условием для развития данных бактериозов, при одновременном снижении иммунитета растения и провокации повышения восприимчивости самого картофеля к патогенным микроорганизмам [13, 30].

Вторая причина обусловлена наличием у пектобактерий особого типа секреции [2, 4], называемого «Quorum Sensing», благодаря которому заболевание может долго находиться в латентной стадии и проявляется лишь при достижении наиболее благоприятных условий окружающей среды и пороговой плотности популяции бактерий [17, 20, 23]. В результате клубни со скрытой формой инфекции могут распространяться на огромные расстояния, пересекая национальные границы. В подтверждение этого было проведено сравнение результатов полногеномного секвенирования штаммов *Dickeya solani*, зафиксированных в России в 2009 г., со штаммами, вызвавшими вспышку черной ножки в Нидерландах в 2007 г., в ходе которого выяснилось практически полное сходство между штаммами [16, 27].

Третья причина обусловлена тем, что пектобактерии могут сохраняться эндофитно и эпифитно. Они способны накапливаться в ризосфере, водоемах и на поверхности растений с последующим заражением здоровых растений.

В своих исследованиях Карьялайнен и др. [14] установили, что *Pectobacterium spp.* может сохранять жизнеспособность на влажных листьях картофеля, а также размножаться на них. Берджесс и др. [3] заметили увеличение количества пектобактерий на листьях картофеля в конце вегетационного периода, откуда бактерии могут распространяться на клубни во время сбора урожая, просто в результате смывания дождем из инфицированных надземных тканей, – в частности, после разрушения ботвы [10, 21]. Так, в ходе эксперимента по распространению эпифитной популяции патогенов с листьев было доказано, что заражение клубней патогеном *P. parmentieri* может происходить за счет инокулюма, смытого с инфицированных остатков ботвы в почву, поскольку в первую неделю после уничтожения листьев количество бактериального патогена в почве значительно увеличилось [15].

Помимо распространения эпифитной популяции патогенов через дождевую воду в почву с последующим заражением клубней, была отмечена способность пектобактерий проникать с поверхности листа в сосудистую систему растения. Так, при проведении ряда экспериментов, в которых стебли и сильно поврежденные листья растений инокулировали высокой плотностью патогенов, было зафиксировано перемещение бактерий по водной поверхности к естественным отверстиям – гидатомам и устьицам. Помимо прочего, пектобактерии способны продуцировать фермент коронатин, предотвращающий закрытие устьиц и тем самым способствующий проникновению бактерий в мезофилл листа [21]. При этом бактерии с листьев среднего яруса по сосудистой системе перемещались к верхушке растения и далее – вниз по стеблям, к столонам и дочерним клубням [6], попутно передавая инфекцию в клубни нового урожая.

Несомненно, основным источником заражения картофеля черной ножкой по-прежнему являются инфицированные материнские клубни, и разработка системы сертификации семенных клубней на отсутствие патогенов *Pectobacterium* и *Dickeya*

может в значительной мере предотвратить распространение заболевания. Однако эпифитная популяция патогенов также может привести к его распространению. Ведь в дополнение к передаче патогенов через почвенную влагу заражение может происходить воздушно-капельным путем посредством переносимых ветром мелкодисперсных взвесей бактерий в воздухе [9, 22].

Положительным примером в борьбе с черной ножкой может выступать система тестирования клубней в Шотландии [7, 8], при которой все импортируемые семенные клубни должны быть проверены перед посадкой на отсутствие зараженности возбудителями черной ножки. Кроме того, в течение вегетации дважды проводятся мониторинг посадок семенного картофеля, диагностика клубней, полученных после уборки урожая, а также ежегодная плановая проверка воды из водоемов, используемых для орошения картофельных полей, на наличие патогенных штаммов *Pectobacterium* и *Dickeya* [28].

К сожалению, с учетом биологии возбудителей черной ножки, способных не только распространяться через зараженный семенной материал, но и сохраняться в эпифитных популяциях, использование сертифицированного семенного материала не может полностью исключить риск возникновения заболеваний, и наиболее эффективным средством защиты картофеля по-прежнему являются пестициды. Лишь полноценная химическая защита, включающая в себя как предпосадочную обработку клубней, так и обработку по листу в течение вегетации, может обеспечить здоровье растений и получение полноценного урожая.

В последнее время на картофеле все чаще фиксируется комплексное поражение культуры фитофторозом, альтернариозом и бактериальными гнилями, защита от которых подразумевает применение препаратов с расширенным спектром действия. Однако многие применяемые ранее в сельском хозяйстве препараты оказались токсичными и экологически небезопасными [33], а современный ассортимент препаратов для предпосадочной обработки клубней и опрыскивания посевов в период вегетации достаточно ограничен ввиду отсутствия новых препаративных форм, эффективных в первую очередь против почвенно-клубневой инфекции. При этом необходимо понимать, что чувствительность фитопатогенных бактерий к пестицидам зависит от штамма. Это следует учитывать на практике – в частности, оценка антибактериального действия различных препаратов не должна ограничиваться одним бактериальным штаммом.

В связи с вышесказанным следует отметить необходимость разработки новых препаративных форм, эффективных против как грибных, так и бактериальных фитопатогенов, при этом не оказывающих фитотоксического действия на растение и безопасных для человека и окружающей среды. В этой связи особый интерес представляют медьсодержащие препараты, ионы которых способны оказывать противогрибковое и антибактериальное действие в низких концентрациях [1]. Эффективность медьсодержащих фунгицидов обусловлена способностью меди вызывать денатурацию белковых структур грибов и бактерий, а биостатический эффект меди, препятствующий размножению бактерий на обработанной поверхности, позволяет сокращать концентрацию меди в самом препарате и кратность обработок фунгицидом [24].

Компанией Syngenta был разработан в усовершенствованной формуляции препарат Ридомил Голд Р, ВДГ. Это фунгицид комбинированного действия, применяемый для защиты картофеля, овощных культур и винограда от комплекса болезней. Благодаря двухкомпонентному составу из мефеноксана и хлорокиси меди он как обеспечивает защиту против широкого спектра заболеваний, так и обладает дополнительным профилактическим действием по отношению к бактериальным болезням.

Целью работы является оценка *in vitro* бактерицидных свойств препарата Ридомил Голд Р по отношению к возбудителям черной ножки картофеля.

Методика исследований

Экспериментальная работа проводилась на базе лаборатории кафедры защиты растений РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева в 2020–2021 гг.

Для оценки антибактериальных свойств фунгицидов использовались референтный штамм *Dickeya chrysanthemi* (DSM 4610, Германия), изоляты бактерий *Pectobacterium carotovorum subsp. brasiliensis* (РФ, Омская область) и *Pectobacterium wasabiae* (РФ, Кемеровская область), выделенные нами из зараженного посадочного материала в 2020–2021 гг. и идентифицированные при помощи коммерческих наборов реагентов «ФИТОСКРИН» для обнаружения патогенов картофеля методом ПЦР в реальном времени (РН-029, РН-044, производитель ООО «Синтол», г. Москва).

Исследование было направлено на оценку бактерицидного действия фунгицида Ридомил Голд Р, ВДГ (действующее вещество: 20 г/кг мефеноксам и 142 г/кг меди охсихлорид). Эталоном служил препарат со схожим спектром действия по отношению к возбудителям черной ножки, но с большим содержанием действующих веществ (42 г/кг цимоксанил + 689,5 г/кг меди хлорокись).

Оценку бактерицидных свойств проводили на картофельно-глюкозном агаре (КГА, производитель HiMedia) с добавлением фунгицида в концентрациях 0,1; 0,2; 0,4; 0,6 и 1% по препарату. Расчет нормы расхода рабочего раствора для внесения в питательную среду КГА осуществляли, исходя из рекомендуемых производителем норм расхода (для Ридомил Голд Р – 5 кг/га препарата при норме расхода рабочего раствора 300 л/га, для эталона – 2 кг/га при расходе рабочего раствора 400 л/га).

Необходимые концентрации препарата в среде достигались путем добавления в автоклавированную питательную среду КГА при 50°C фунгицида, разведенного в стерильной дистиллированной воде с соответствующим содержанием действующего вещества [11] из расчета 20 мл раствора на 80 мл среды. В качестве контроля использовали среду КГА с добавлением 20 мл дистиллированной воды к 80 мл питательной среды. Затем полученную смесь разливали по чашкам Петри по 20 мл.

После отверждения поверхность питательной среды засеивали бактериальными суспензиями суточной культуры бактериальных патогенов по 100 мкл, используя для этого предварительно подготовленное десятикратное разведение в трехкратной повторности. Засеянные чашки инкубировали при 28°C в течение 24 ч.

Бактерицидное действие фунгицида оценивали через сутки путем подсчета числа бактериальных колоний в различных вариантах.

Дополнительно было проведено исследование по оценке эффективности препарата против эпифитной популяции патогенов.

Для фиксации развития эпифитной популяции патогенов был применен метод отпечатков инокулированных листьев картофеля на поверхность различных питательных сред.

В подтверждение пектолической активности эпифитной популяции возбудителей черной ножки была использована селективная пектатная среда SVP-SL [12]. Для визуальной оценки наличия колоний патогена с целью последующего отбора изолятов для уточнения видовой принадлежности методом ПЦР в реальном времени была использована полуселективная среда King B. С целью обоснования влияния фунгицида Ридомил Голд Р на эпифитную популяцию фитопатогенных микроорганизмов была использована среда КГА с добавлением фунгицида в концентрации 1%.

Листья картофеля отбирали со среднего яруса вегетирующих в теплице растений, тщательно промывали в проточной воде, дезинфицировали 96%-ным этанолом. Бактериальную суспензию патогенов плотностью 10^6 КОЕ/мл распределяли

по поверхности листьев с помощью шприца на 1 мл из расчета 100 мкл на лист. После полного высыхания капель суспензии листья раскладывали по поверхностям трех питательных сред. Чашки Петри вместе с листьями инкубировали в термостате при температуре 28°C в течение 2 ч. Затем чашки извлекали из термостата, удаляли из каждой чашки листья и вновь помещали чашки Петри в термостат при той же температуре.

Учет роста колоний проводили для сред King B и КГА через 24 ч, для среды CVP-SL – на пятые сутки инкубации.

Результаты и их обсуждение

Добавление фунгицида Ридомил Голд Р в питательную среду в концентрации 0,28 г/л и более (по действующему веществу хлорокись меди) препятствовало росту колоний типового штамма *Dickeya chrysanthemi*. Бактериостатический эффект препарата проявлялся при снижении концентрации фунгицида в среде до 0,14 г/л, о чем свидетельствовало уменьшение числа бактериальных колоний на 30% по сравнению с контролем (табл. 1).

Сравнение биологической эффективности фунгицида Ридомил Голд Р с эталонным препаратом показало худшую антибактериальную активность у эталона. Внесение эталонного фунгицида в питательную среду препятствовало росту бактериальных колоний только при концентрации действующего вещества хлорокись меди 6,9 г/л, что превышало более чем в 48 раз аналогичную эффективную концентрацию меди в составе Ридомила Голд Р. Дальнейшее же снижение концентрации эталонного препарата в среде вызывало бактериостатический эффект вплоть до достижения концентрации действующего вещества 0,69 г/л, при которой биологическая эффективность эталона снизилась до 0% и сравнялась с контролем.

Таблица 1

Оценка биологической эффективности фунгицида Ридомил Голд Р на типовом штамме *Dickeya chrysanthemi*

Концентрация рабочего раствора препарата, %	Ридомил Голд Р (меди оксихлорид, г/л рабочего раствора)	Биологическая эффективность Ридомил Голд Р, %	Эталон (меди хлорокись, г/л рабочего раствора)	Биологическая эффективность эталона, %
0,1	0,14	30	0,69	0
0,2	0,28	100	1,38	30
0,4	0,57	100	2,76	35
0,6	0,85	100	4,14	40
1,0	1,42	100	6,90	100

Таким образом, проведенное исследование подтвердило повышенную антибактериальную активность препарата Ридомил Голд Р в сравнении с эталонным пестицидом против возбудителя черной ножки картофеля *Dickeya chrysanthemi*. Даже при равных концентрациях рабочих растворов препаратов в среде эталонный образец показывает худший антибактериальный эффект (рис. 1) по отношению к заявленному патогену несмотря на большее содержание действующих веществ в своем составе.

Поскольку биологическая эффективность препарата Ридомил Голд Р значительно превышала эффективность эталонного препарата при тестировании на контрольном

штамме, далее исследования проводились без сравнения с эталоном.

Для дальнейшей оценки биологической эффективности фунгицида Ридомил Голд Р по отношению к возбудителям черной ножки картофеля были подобраны два изоляты в составе нашей коллекции: изолят из Омской области, идентифицированный как *Pectobacterium carotovorum subsp. brasiliensis*, и изолят из Кемеровской области, идентифицированный как *Pectobacterium wasabiae*.

Результаты исследования действия фунгицида Ридомил Голд Р по отношению к изоляту *Pectobacterium carotovorum subsp. brasiliensis* были аналогичными данным, полученным на типовом штамме *Dickeya chrysanthemi*. Внесение препарата в питательную среду в концентрации 0,284 г/л и более препятствовало росту бактериальных колоний. Понижение концентрации фунгицида в среде до 0,142 г/л привело к снижению биологической эффективности препарата со 100 до 30% (табл. 2).

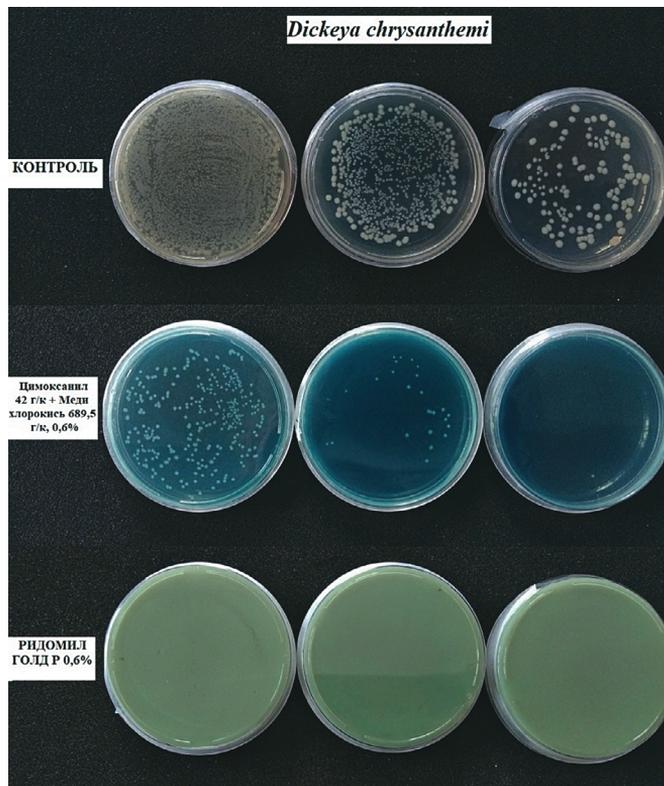


Рис. 1. Сравнение бактерицидного действия препаратов при равных концентрациях в среде против возбудителя черной ножки *Dickeya chrysanthemi*:
 верхний ряд – среда КГА без добавления фунгицида;
 средний ряд – среда КГА с добавлением 0,6% рабочего раствора эталона,
 нижний ряд – КГА с добавлением 0,6% рабочего раствора Ридомила Голд Р (числовые значения приведены в таблице 1)

Таблица 2

Биологическая эффективность препарата Ридомил Голд Р против двух видов возбудителей черной ножки картофеля

Концентрация рабочего раствора препарата, %	Биологическая эффективность Ридомил Голд Р, %	
	<i>Pectobacterium carotovorum subsp. brasiliensis</i>	<i>Pectobacterium wasabiae</i>
0,1	30	100
0,2	100	100
0,4	100	100
0,6	100	100
1	100	100

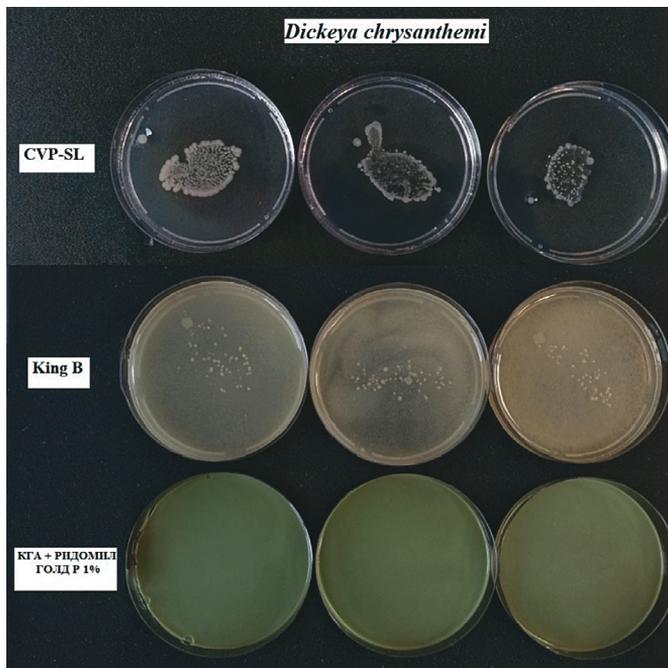


Рис. 2. Оценка бактерицидного действия Ридомил Голд Р против эпифитной популяции возбудителя черной ножки *Dickeya chrysanthemi* методом отпечатков:
 верхний ряд – среда CVP-SL;
 средний ряд – среда King B;
 нижний ряд – КГА с добавлением 1% рабочего раствора Ридомила Голд Р

микробиоты перед началом эксперимента. Для подтверждения наличия на среде колоний именно *Dickeya chrysanthemi* отобранные изоляты были проверены методом ПЦР в реальном времени. В ходе проверки было подтверждено наличие на среде целевого патогена, которым проводилась инокуляция листьев.

Таким образом, нами экспериментально доказана возможность пектолитических бактерий сохраняться в эпифитной популяции на поверхности листьев картофеля.

В варианте с внесением фунгицида Ридомил Голд Р в питательную среду в концентрации 1% (по препарату) рост колоний бактерий в чашках не наблюдался, что подтверждает его высокую эффективность по отношению к эпифитной популяции патогенов черной ножки картофеля.

Выводы

Результаты лабораторного исследования фунгицида Ридомил Голд Р при тестировании *in vitro* доказали высокую эффективность препарата против возбудителей черной ножки картофеля (*Dickeya chrysanthemi*, *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis*, *Pectobacterium wasabiae*). Даже при снижении рекомендуемой нормы расхода препарата в 10 раз он успешно выполняет бактерицидную функцию в отношении заявленных патогенов в отличие от эталонного образца препарата с повышенным содержанием действующих веществ, биологическая эффективность которого существенно понижается при снижении концентрации.

По отношению к изоляту *Pectobacterium wasabiae* внесение фунгицида в питательную среду при всех исследуемых концентрациях препарата препятствовало росту бактериальных клеток.

Для оценки эффективности фунгицида Ридомил Голд Р по отношению к эпифитной популяции возбудителей черной ножки картофеля была проведена серия опытов с применением метода отпечатков листьев картофеля, обработанных бактериальной суспензией патогена.

На селективной среде CVP-SL учитывали гидролизующие пектатный гель колонии, по которым можно судить о наличии пектолитических бактерий (рис. 2). При этом на среде King B было обнаружено множество колоний различных форм и размеров, что говорит о неполной стерилизации листьев от сопутствующей

По итогам исследования по оценке эффективности препарата против эпифитной популяции патогенов методом отпечатков отмечено, что кратковременный контакт препарата с патогенами – возбудителями черной ножки картофеля – приводит к полной гибели фитопатогенных бактерий. Это доказывает перспективность использования фунгицида Ридомил Голд Р для защиты вегетирующих растений картофеля от черной ножки.

Работа выполнена при поддержке ООО «Сингента» (договор от 26 августа 2021 г. № 24/21 на выполнение научно-исследовательских работ в рамках поддержки исследований молодых ученых аграрных образовательных и научных учреждений).

Библиографический список

1. ABD EL-RAHMAN, A.F. Evaluation of some fungicides effectiveness in control of blackleg and common scab of potato / A.F. ABD EL-RAHMAN, A.A. EL-KAFRAWY, O.A. ABD EL-HAFEZ, A.B.D. EL-GHANY // Egyptian Journal of Agricultural Research. – 2018. – Т. 96, № 4. – С. 1307–1323.
2. Alfano J.R. Type III secretion system effector proteins: double agents in bacterial disease and plant defense / J.R. Alfano, A. Collmer // Annu. Rev. Phytopathol. – 2004. – Т. 42. – С. 385–414.
3. Burgess P.J. Contamination and subsequent multiplication of soft rot erwinias on healthy potato leaves and debris after haulm destruction / P.J. Burgess, J.P. Blake-man M.C.M. Perombelon // Plant Pathology. – 1994. – Т. 43, № 2. – С. 286–299.
4. Charkowski A. The role of secretion systems and small molecules in soft-rot Enterobacteriaceae pathogenicity / A. Charkowski, C. Blanco, G. Condemine, D. Expert, T. Franza, C. Hayes, I. Yedidia // Annual review of phytopathology. – 2012. – Т. 50. – С. 425–449.
5. Czajkowski R. Detection, identification and differentiation of Pectobacterium and Dickeya species causing potato blackleg and tuber soft rot: a review / R. Czajkowski, M.C.M. Pérombelon S. Jafra, E. Lojkowska, M. Potrykus, Wolf J.M. Van Der W. Sledz // Annals of Applied Biology. – 2015. – Т. 166, № 1. – С. 18–38.
6. Czajkowski R. Systemic colonization of potato plants by a soilborne, green fluorescent protein-tagged strain of Dickeya sp. biovar 3 / R. Czajkowski, W.J. De Boer H. Velvis, J.M. Van der Wolf // Phytopathology. – 2010. – Т. 100, № 2. – С. 134–142.
7. Euphresco, 2013. Dickeya species in potato and management strategies (Dickeyaspp). Final report. – URL: <https://www.euphresco.net/projects/portfolio>.
8. Euphresco-II, 2015. Assessment of Dickeya sp. and Pectobacterium sp. on potatoes and ornamentals (Dickeya). Final report. – URL: <https://www.euphresco.net/projects/portfolio>.
9. Graham D.C. Potential spread of Erwinia spp. in aerosols / D.C. Graham, M.D. Harrison // Phytopathology. – 1975. – Т. 65, № 6. – С. 739–741.
10. Greiner B.W. Inoculation and spread of Dickeya in potatoes. – North Dakota State University, 2019.
11. Hu, J.H. Mefenoxam sensitivity and fitness analysis of Phytophthora nicotianae isolates from nurseries in Virginia, USA / J.H. Hu, C.X. Hong, E.L. Stromberg, G.W. Moorman // Plant Pathology. – 2008. – Т. 57, № 4. – С. 728–736.
12. Hélias V. Two new effective semiselective crystal violet pectate media for isolation of Pectobacterium and Dickeya / V. Hélias, P. Hamon, E. Huchet, J.M. Van der Wolf D. Andrivon // Plant pathology. – 2012. – Т. 61, № 2. – С. 339–345.
13. Jatav M.K. Impact of Climate Change on Potato Production in India / M.K. Jatav, V.K. Dua, P.M. Govindakrishnan, R.P. Sharma // Sustainable Potato Production and the Impact of Climate Change. – IGI Global, 2017. – С. 87–104.

14. *Karjalainen R.* Piilevän tyvimädän tunnistaminen perunasta PCR-tekniikalla ja taudin torjuntamahdollisuudet / R. Karjalainen, S. Lehtimäki, M. Toivonen // Kohti huippulaatuista siemenperunaa. – 2000. – С. 47.
15. *Kastelein P.* Systemic colonization of potato plants resulting from potato haulm inoculation with *Dickeya solani* or *Pectobacterium parmentieri* / P. Kastelein, M.G. Förch, M.C. Krijger, P.S. Van der Zouwen W. Van den Berg J.M. Van der Wolf // Canadian Journal of Plant Pathology. – 2021. – Т. 43, № 1. – С. 1–15.
16. *Khayi S.* Complete genome anatomy of the emerging potato pathogen *Dickeya solani* type strain IPO 2222 T / S. Khayi, P. Blin, T.M. Chong, K.G. Chan, D. Faure // Standards in genomic sciences. – 2016. – Т. 11, № 1. – С. 1–6.
17. *Krzyzanowska D.M.* Compatible mixture of bacterial antagonists developed to protect potato tubers from Soft Rot caused by *Pectobacterium* spp. and *Dickeya* spp / D.M. Krzyzanowska, T. Maciag, J. Siwinska, M. Krychowiak, S. Jafra, R. Czajkowski // Plant disease. – 2019. – Т. 103, № 6. – С. 1374–1382.
18. *Ma, B.* Host range and molecular phylogenies of the soft rot enterobacterial genera *Pectobacterium* and *Dickeya* / B. Ma, M.E. Hibbing, H.S. Kim, R.M. Reedy, I. Yedidia, J. Breuer, A.O. Charkowski // Phytopathology. – 2007. – Т. 97, № 9. – С. 1150–1163.
19. *Mansfield J.* Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology / J. Mansfield, S. Genin, S. Magori, V. Citovsky, M. Sriariyanum, P. Ronald, G.D. Foster // Molecular plant pathology. – 2012. – Т. 13, № 6. – С. 614–629.
20. *Papenfort K.* Quorum sensing signal – response systems in Gram-negative bacteria / K. Papenfort, B.L. Bassler // Nature Reviews Microbiology. – 2016. – Т. 14, № 9. – С. 576–588.
21. *Pasanen M.* Characterization of *Pectobacterium* strains causing soft rot and blackleg of potato in Finland, 2020.
22. Pérombelon M.C.M. Potato blackleg: epidemiology, host-pathogen interaction and control // Netherlands Journal of Plant Pathology. – 1992. – Т. 98, № 2. – С. 135–146.
23. *Pöllumaa L.* Quorum sensing and expression of virulence in *pectobacteria* / L. Pöllumaa, T. Alamäe, A. Mäe // Sensors. – 2012. – Т. 12, № 3. – С. 3327–3349.
24. *Rusjan D.* Copper in horticulture // Fungicides for plant and animal diseases. – IntechOpen, 2012.
25. *Samson R.* Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zea* sp. nov. / R. Samson, J.B. Legendre, R. Christen, M. Fischer-Le Saux W. Achouak, L. Gardan // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2005. – Т. 55, № 4. – С. 1415–1427.
26. *Toth I.K.* *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe / I.K. Toth, J.M. Van der Wolf G. Saddler, E. Lojkowska, V Hélias., M. Pirhonen, J.G. Elphinstone // Plant Pathology. – 2011. – Т. 60, № 3. – С. 385–399.
27. *Виноградова С.В.* Полногеномное секвенирование фитопатогенных бактерий / С.В. Виноградова, Е.И. Кырова, А.Н. Игнатов // Защита картофеля. – 2014. – № 2. – С. 15–17.
28. *Ерохова М.Д.* «Черная ножка» – опасное для отечественного картофелеводства заболевание / М.Д. Ерохова, М.А. Кузнецова // Аграрная наука. – 2019. – Т. 3. – С. 44–48.
29. *Игнатов А.Н.* Распространение бактериальных и фитоплазменных болезней растений в России / А.Н. Игнатов, М.С. Егорова, М.В. Ходыкина // Защита и карантин растений. – 2015. – № 5. – С. 6–10.

30. *Игнатов А.Н.* Динамика видового состава патогенов картофеля в Европейской части РФ / А.Н. Игнатов, Ю.С. Панычева, М.В. Воронина, Д.М. Васильев Ф.С.У. Джалилов // Картофель и овощи. – 2019. – Т. 9. – С. 28–32.

31. *Карлов А.Н.* *Dickeya dianthicola*-новый для России бактериальный патоген картофеля / А.Н. Карлов, В.С. Зотов, Э.Ш. Пехтерева, Е.В. Матвеева Ф.С.У. Джалилов И.А. Фесенко, Г.И. Карлов // Известия ТСХА. – 2010. – № 3. – С. 134–141.

32. *Ковтунов Е.А.* Ферменты деградации рамногалактуронана как факторы вирулентности фитопатогенной бактерии *Pectobacterium atrosepticum* / Е.А. Ковтунов, В.Ю. Горшков, Н.Е. Гоголева, О.Е. Петрова, Е.В. Осипова, Ч.Б. Нуриахметова, Ю.В. Гоголев // Сельскохозяйственная биология. – 2019. – Т. 54, № 3. – С. 566–574.

33. *Мыца Е.Д.* Новый препарат «Зерокс» – оценка фунгицидного и бактерицидного эффекта *in vitro* / Е.Д. Мыца, С.Н. Еланский, Л.Ю. Кокаева, М.А. Побединская, А.Н. Игнатов, М.А. Кузнецова, Ю.А. Крутяков // Достижения науки и техники АПК. – 2014. – № 12. – С. 16–19.

EFFICACY OF RIDOMIL GOLD R AS BACTERICIDE AGAINST POTATO BLACK LEG PATHOGEN

A. A. DATSYUK, F.S.-U. DZHALILOV

(Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy)

Bactericidal activity of copper-containing fungicide Ridomil Gold R (WDG) was tested in framework of potato black leg control. Three strains of bacteria causing potato black leg were employed in the trials: Dickeya chrysanthemi (DSM 4610, Germany), Pectobacterium carotovorum subsp. brasiliensis (Russia, Omsk region), Pectobacterium wasabiae (Russia, Kemerovo reg.). The activity was estimated in vitro by counting colony number on PDA agar with 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, and 1.0% of the fungicide. According to the results, for all the tested bacteria Ridomil Gold R had LD100 = 0.2%. Additional test has been done by potato leafprint method, after spraying leaves by bacterial suspension. The leaves were imprinted on PDA agar with 1% fungicide. No viable bacteria were found after incubation.

Keywords: blackleg of potato, soft-rot bacterial pathogens, plant protection, fungicides, copper preparations, Ridomil Gold R, *Dickeya chrysanthemi*, *Pectobacterium carotovorum subsp. brasiliensis*, *Pectobacterium wasabiae*

References

1. *ABD EL-RAHMAN A. F., EL-KAFRAWY, A. A., ABD EL-HAFEZ, O. A., EL-GHANY, A. B.D.* Evaluation of some fungicides effectiveness in control of blackleg and common scab of potato // Egyptian Journal of Agricultural Research. – 2018. – Т. 96. – № 4. – С. 1307–1323.

2. *Alfano J.R., Collmer A.* Type III secretion system effector proteins: double agents in bacterial disease and plant defense // Annu. Rev. Phytopathol. – 2004. – Т. 42. – С. 385–414.

3. *Burgess P.J., Blakeman J.P., Perombelon, M.C.M.* Contamination and subsequent multiplication of soft rot erwinias on healthy potato leaves and debris after haulm destruction // Plant Pathology. – 1994. – Т. 43. – № 2. – С. 286–299.

4. *Charkowski A., Blanco C., Condemine G., Expert D., Franza T., Hayes C., Yedidia I.* The role of secretion systems and small molecules in soft-rot Enterobacteriaceae pathogenicity // Annual review of phytopathology. – 2012. – Т. 50. – С. 425–449.

5. *Czajkowski R., Pérombelon M.C. M., Jafra S., Lojkowska E., Potrykus M., Van der Wolf J.M., Sledz W.* Detection, identification and differentiation of *Pectobacterium*

- and *Dickeya* species causing potato blackleg and tuber soft rot: a review // *Annals of Applied Biology*. – 2015. – T. 166. – № . 1. – C. 18–38.
6. Czajkowski R., De Boer W.J., Velvis H., Van der Wolf J.M. Systemic colonization of potato plants by a soilborne, green fluorescent protein-tagged strain of *Dickeya* sp. biovar 3 // *Phytopathology*. – 2010. – T. 100. – № . 2. – C. 134–142.
7. Euphresco, 2013. *Dickeya* species in potato and management strategies (*Dickeya* spp). Final report, <https://www.euphresco.net/projects/portfolio>
8. Euphresco-II, 2015. Assessment of *Dickeya* sp. and *Pectobacterium* sp. on potatoes and ornamentals (*Dickeya*). Final report, <https://www.euphresco.net/projects/portfolio>
9. Graham D.C., Harrison M.D. Potential spread of *Erwinia* spp. in aerosols // *Phytopathology*. – 1975. – T. 65. – № . 6. – C. 739–741.
10. Greiner B.W. Inoculation and spread of *Dickeya* in potatoes: dis. – North Dakota State University, 2019.
11. Hu J.H., Hong C.X., Stromberg E.L., Moorman G.W. Mefenoxam sensitivity and fitness analysis of *Phytophthora nicotianae* isolates from nurseries in Virginia, USA // *Plant Pathology*. – 2008. – T. 57. – № . 4. – C. 728–736.
12. Hélias V., Hamon P., Huchet E., Van der Wolf J.M., Andrivon D. Two new effective semiselective crystal violet pectate media for isolation of *Pectobacterium* and *Dickeya* // *Plant pathology*. – 2012. – T. 61. – № . 2. – C. 339–345.
13. Jatav M.K., Dua V.K., Govindakrishnan P.M., Sharma R.P. Impact of Climate Change on Potato Production in India // *Sustainable Potato Production and the Impact of Climate Change*. – IGI Global, 2017. – C. 87–104.
14. Karjalainen R., Lehtimäki S., Toivonen M. Piilevän tyvimädän tunnistaminen perunasta PCR-tekniikalla ja taudin torjuntamahdollisuudet // *Kohti huippulaatuista siemenperunaa*. – 2000. – S. 47.
15. Kastelein P., Förch M.G., Krijger M.C., Van der Zouwen P.S., Van den Berg W., Van der Wolf J.M. Systemic colonization of potato plants resulting from potato haulm inoculation with *Dickeya solani* or *Pectobacterium parmentieri* // *Canadian Journal of Plant Pathology*. – 2021. – T. 43. – № . 1. – S. 1–15.
16. Khayi S., Blin P., Chong T.M., Chan K.G., Faure D. Complete genome anatomy of the emerging potato pathogen *Dickeya solani* type strain IPO 2222 T // *Standards in genomic sciences*. – 2016. – T. 11. – № . 1. – C. 1–6.
17. Krzyzanowska D.M., Maciag T., Siwinska J., Krychowiak M., Jafra S. Czajkowski, R. Compatible mixture of bacterial antagonists developed to protect potato tubers from Soft Rot caused by *Pectobacterium* spp. and *Dickeya* spp // *Plant disease*. – 2019. – T. 103. – № . 6. – S. 1374–1382.
18. Ma B., Hibbing M.E., Kim H.S., Reedy R.M., Yedidia I., Breuer J., Charkowski A.O. Host range and molecular phylogenies of the soft rot enterobacterial genera *Pectobacterium* and *Dickeya* // *Phytopathology*. – 2007. – T. 97. – № . 9. – C. 1150–1163.
19. Mansfield J., Genin S., Magori S., Citovsky V., Sriariyanum M., Ronald P., Foster G.D. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology // *Molecular plant pathology*. – 2012. – T. 13. – № . 6. – S. 614–629.
20. Papenfort K., Bassler B.L. Quorum sensing signal–response systems in Gram-negative bacteria // *Nature Reviews Microbiology*. – 2016. – T. 14. – № . 9. – S. 576–588.
21. Pasanen M. Characterization of *Pectobacterium* strains causing soft rot and blackleg of potato in Finland. – 2020.
22. Pérombelon M.C.M. Potato blackleg: epidemiology, host-pathogen interaction and control // *Netherlands Journal of Plant Pathology*. – 1992. – T. 98. – № . 2. – S. 135–146.
23. Pöllumaa L., Alamäe T., Mäe A. Quorum sensing and expression of virulence in *pectobacteria* // *Sensors*. – 2012. – T. 12. – № . 3. – S. 3327–3349.

24. *Rusjan D.* Copper in horticulture // Fungicides for plant and animal diseases. – IntechOpen, 2012.
25. *Samson R., Legendre J.B., Christen R., Fischer-Le Saux M., Achouak W., Gardan L.* Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zae* sp. nov. // International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. – 2005. – Т. 55. – № . 4. – С. 1415–1427.
26. *Toth I.K., Van der Wolf J.M., Saddler G., Lojkowska E., Hélias V., Pirhonen M., Elphinstone J.G.* *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe // Plant Pathology. – 2011. – Т. 60. – № . 3. – С. 385–399.
27. *Vinogradova S.V., Kyrova E.I., Ignatov A.N.* Polnogenomnoe sekvenirovanie fitopatogennykh bakterij // Zashchita kartofelya. – 2014. – № . 2. – С. 15–17.
28. *Erohova M.D., Kuznecova M.A.* “СHyornaya nozhka”-опасное для оteчественного картоfeлеводства заболевание // Agrarnaya nauka. – 2019. – Т. 3. – С. 44–48.
29. *Ignatov A.N., Egorova M.S., Hodykina M.V.* Rasprostranenie bakterial’nykh i fitoplazmennyykh boleznej rastenij v Rossii // Zashchita i karantin rastenij. – 2015. – № . 5. – С. 6–10.
30. *Ignatov A.N., Panycheva, YU. S., Voronina M.V., Vasil’ev D. M., Dzhililov F.S.U.* Dinamika vidovogo sostava patogenov kartofelya v evropejskoj chasti RF // Kartofel’ i ovoshchi. – 2019. – Т. 9. – С. 28–32.
31. *Karlov A.N., Zotov V.S., Pekhtereva E.Sh., Matveeva E.V., Dzhililov F.S.U., Fesenko I.A., Karlov G.I.* *Dickeya dianthicola*-novyj dlya Rossii bakterial’nyj patogen kartofelya // Izvestiya Timiryazevskoj sel’skohozyajstvennoj akademii. – 2010. – № . 3. – С. 134–141.
32. *Kovtunov E.A., Gorshkov V.Yu., Gogoleva N.E., Petrova O.E., Osipova E.V., Nuriahmetova, Ch. B., Gogolev, Yu.V.* Fermenty degradacii ramnogalakturonana kak faktory virulentnosti fitopatogennoj bakterii *Pectobacterium atrosepticum* // Sel’skohozyajstvennaya biologiya. – 2019. – Т. 54. – № . 3. – С. 566–574.
33. *Myca E.D., Elanskij S.N., Kokaeva L.Yu., Pobedinskaya M.A., Ignatov A.N., Kuznecova M.A., Krutyakov, Yu.A.* Novyj preparat «zeroks»-ocenka fungicidnogo i baktericidnogo effekta in vitro // Dostizheniya nauki i tekhniki APK. – 2014. – № . 12. – С. 16–19.

Дацюк Анна Андреевна, аспирант кафедры защиты растений ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» (127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: annadacyk@rgau-msha.ru).

Джалилов Февзи Сеид-Умерович, д-р биол. наук, заведующий кафедрой защиты растений ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева» (127550, Российская Федерация, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: dzhililov@rgau-msha.ru).

Anna A. Datsyuk, PhD student, Department of Plant protection, Russian Timiryazev State Agrarian University (127550, Moscow, Timiryzevskaya Str., 49; e-mail: annadacyk@rgau-msha.ru).

Fevzi S.-U. Dzhililov, DSc (Bio), Head of the Department of Plant Protection of the Russian Timiryazev State Agrarian University (127550, Moscow, Timiryzevskaya Str., 49; e-mail: dzhililov@rgau-msha.ru).