

## **АНАЛИЗ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ ФУНГИЦИДА РИДОМИЛ ГОЛД Р ПРОТИВ ЭПИФИТНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ЧЁРНОЙ НОЖКИ КАРТОФЕЛЯ**

*Дацюк Анна Андреевна, аспирант кафедры защиты растений, E-mail: [annadacyk@rgau-msha.ru](mailto:annadacyk@rgau-msha.ru)  
ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»*

***Аннотация:** В статье описаны пути передачи эпифитной популяции возбудителя чёрной ножки картофеля *Dickeya chrysanthemi* и приведены результаты анализа антибактериальной активности фунгицида Ридомил Голд Р в отношении данного патогена при предварительной обработке по листу.*

***Ключевые слова:** болезни растений, чёрная ножка картофеля, фунгициды, Ридомил Голд Р, *Dickeya chrysanthemi*.*

**Введение.** Чёрная ножка картофеля – широко распространенное бактериальное заболевание, вызываемое пектолитическими бактериями из родов *Pectobacterium* и *Dickeya*. Данные возбудители входят в десятку важнейших фитопатогенов, поражая множество овощных, плодовых и декоративных культур во всем мире [1]. Чёрная ножка и сопутствующие ей мокрые гнили оказывают значительное влияние на производство картофеля. При возделывании картофеля потери урожая культуры могут достигать 50–75 %, а поражение всего 5 % растений может привести к потерям в период хранения до 20 % и более [4]. Несмотря на то, что основным источником инфекции являются латентно инфицированные семенные клубни картофеля, возбудители чёрной ножки способны сохраняться в эпифитных популяциях на поверхности растений, создавая угрозу распространения заболевания от растения к растению в поле, посредством дождевой влаги и орудий труда. Так, при постановке опытов с инфицированными суспензиями патогенов *D. solani* и *P. parmentieri* ботвы картофеля было отмечено перемещение бактерий из зараженных листьев в стебли и подземные части растений с передачей заболевания в дочерние клубни картофеля [2]. При этом после инокуляции растения содержались в условиях повышенной влажности, в результате чего на поверхности листьев присутствовала свободная вода, посредством которой патогены и проникали в естественные отверстия гидатод и устьиц, распространяясь в мезофилл растения и приводя к системным инфекциям. В связи с тем, что на данный момент отсутствуют сорта картофеля, обладающие высокой степенью устойчивости к чёрной ножке, а сами возбудители могут сохраняться не только внутри инфицированных клубней, но и на поверхности растений, применение химического метода в защите картофеля необходимо

рассматривать как основу в борьбе с данными патогенами. При этом важно учитывать необходимость защиты от чёрной ножки не только клубня, но и самого растения, а при выборе препарата, с целью снижения пестицидной нагрузки, опираться на его комплексное действие, как против бактериальных, так и против грибных фитопатогенов. Целью данного исследования являлась оценка антибактериальной активности фунгицида Ридомил Голд Р в отношении эпифитной популяции возбудителя чёрной ножки картофеля *Dickeya chrysanthemi*.

**Материалы и методы.** Используемый бактериальный штамм патогена. Для оценки антибактериальных свойств фунгицида Ридомил Голд Р был использован референтный штамм пектолитической бактерии *Dickeya chrysanthemi* (DSM 4610, Германия). Тестируемый фунгицид. Ридомил Голд Р, ВДГ (20 г/кг мефеноксам и 142 г/кг меди оксихлорид) – фунгицид комбинированного действия, применяемый для защиты картофеля, овощных культур и винограда от широкого спектра заболеваний, обладающий дополнительным профилактическим действием по отношению к бактериозам картофеля. Методика оценки способности фунгицида, при предварительной обработке по листу, предотвращать заселение листовой поверхности картофеля возбудителями черной ножки. Со среднего яруса вегетирующих в теплице растений картофеля отбирали листья среднего размера, промывали в проточной воде, дезинфицировали 96%-ным раствором этанола. Часть листьев обрабатывали фунгицидом для последующей оценки защитного действия, часть – использовали в качестве контроля. Обработку фунгицидом в данном опыте и последующих экспериментах проводили при рекомендуемой концентрации рабочего раствора (5 кг/га при расходе 300 л) при расходе 500 раствора мкл на лист. Листья, предназначенные для контроля, обрабатывали 500 мкл стерильной воды. После высыхания капель фунгицида и воды по поверхности листьев распределяли по 100 мкл бактериальные суспензии плотностью 108, 106, 104 КОЕ/мл. После полного высыхания капель суспензии листья раскладывали по чашкам Петри на поверхность картофельно-глюкозного агара (КГА). Чашки Петри вместе с листьями инкубировали при 28°C в термостате в течении 2 часов. Затем чашки извлекали из термостата, удаляли из них листья и вновь помещали чашки Петри в термостат при той же температуре на 24 часа. Методика оценки способности фунгицида предотвращать заселение листовой поверхности картофеля возбудителями черной ножки при передаче патогенов от листа к листу через механический контакт. Листья картофеля, как и в предыдущем опыте, отбирали, дезинфицировали, часть обрабатывали фунгицидом в аналогичном количестве, часть – стерильной водой. После чего необработанные фунгицидом листья инокулировали 100 мкл суспензией патогена плотностью 108 КОЕ/мл и оставляли до полного высыхания капель суспензии бактерий. Затем накладывали на инокулированные листья по одному листу картофеля сверху: в первом варианте – обработанному фунгицидом, во втором – без обработки. Листья совместно инкубировали в термостате при 28°C в течении 2 часов, по прошествии которых их извлекали из термостата и делали отпечатки листьев на

среду КГА с последующим инкубированием чашек Петри с листьями в термостате при той же температуре в течение 3 часов. После чего удаляли листья из чашек Петри, а сами чашки с полученными отпечатками вновь возвращали в термостат при той же температуре на 24 часа. Оценка способности фунгицида Ридомил Голд Р предотвращать заселение листовой поверхности картофеля возбудителями черной ножки при передаче патогенов от листа к листу капельным путем. Подготовка к проведению эксперимента проходила аналогично описанным выше опытам. Часть листьев обрабатывали фунгицидом в известной концентрации, часть – оставляли без обработки. Необработанные листья инокулировали 100 мкл суспензией патогена плотностью 108 КОЕ/мл, после высыхания капель которой наносили на каждый лист по 200 мкл стерильной воды. Через 10 минут воду с листьев собирали при помощи автоматической пипетки и переносили по 100 мкл данной воды: в первом варианте – на лист обработанный фунгицидом и во втором варианте – на необработанный лист. После высыхания капель, делали отпечаток листьев на среду КГА, убрали чашки Петри с листьями в термостат при 28°C на 3 часа, по прошествии которых листья извлекали из чашек Петри, инкубацию которых продолжали ещё в течение 24 часов. Оценка способности возбудителей черной ножки картофеля продолжительное время сохраняться на поверхностях орудий труда. Для эксперимента были использованы предварительно промытые под проточной водой, дезинфицированные 96%-ным раствором этанола и высушенные в стерильном ламинарном боксе 4 металлические и 4 полипропиленовые пластины. Две металлические и две полипропиленовые пластины подвергли обработке фунгицидом, путем погружения на 5 минут в раствор фунгицида в той же концентрации, при которой проходила обработка листьев в предыдущих экспериментах. Ещё две металлические и две полипропиленовые пластины оставляли без обработок для контроля заражения. Спустя час проводили инокуляцию бактериальной суспензией плотностью 108 КОЕ/мл всех 8-ми пластин. После инокуляции, половину всех пластин - 2 металлические (одна - обработанная фунгицидом, другая – нет) и 2 полипропиленовые (одна - обработанная фунгицидом, другая – нет) - оставляли в стерильном ламинарном боксе на 6 часов, другую половину пластин - на сутки. По прошествии обозначенного времени делали отпечатки пластин на питательные среды КГА по принципу отпечатков с листьев. Чашки Петри с отпечатками пластин на средах инкубировали в термостате при 28°C в течение 24 часов. Для количественной оценки полученных данных была использована программа LeafDoctor[3], с помощью которой оценивали площадь, занимаемую бактериальными колониями в процентах от общей площади листа/пластины. Каждый из четырех опытов проводили в трехкратной повторности.

**Результаты и их обсуждение.** В результате оценки бактерицидного действия фунгицида Ридомил Голд Р в отношении возбудителя чёрной ножки картофеля *Dickeya chrysanthemi* было определено, что при предварительной обработке листа картофеля препарат проявляет высокую антибактериальную активность по отношению к эпифитной популяции патогенов. На Рисунке 1 представлено, что

при обработке листьев картофеля суспензиями патогена в концентрациях 10<sup>8</sup>, 10<sup>6</sup>, 10<sup>4</sup> КОЕ/мл площадь заселения листьев картофеля бактериальными колониями в контроле составляла 40,9, 18,5, 6,0% от общей площади листа. Однако, применение фунгицида позволило эффективно защитить листья картофеля и снизить площади заселения листьев патогенами до 0% при всех используемых концентрациях бактериальных суспензий.



**Рис. 1** Результаты оценки бактерицидного действия Ридомил Голд Р по отношению к эпифитной популяции возбудителя чёрной ножки картофеля *Dickeya chrysanthemi*.

На следующем этапе анализа антибактериальных свойств фунгицида было проведено три эксперимента, моделирующих возможные пути передачи патогенов и оценен защитный эффект от применения фунгицида в каждом отдельном случае. Первая модель позволяла оценить вероятность передачи патогена от зараженного листа к здоровому путем соприкосновения листовых пластин друг с другом, вторая - описывала возможность пектобактерий передаваться на здоровые растения посредством воды, собранной с предварительно зараженных листьев картофеля. Исходя из результатов экспериментов, представленных в Таблице 1 было определено, что применение фунгицида Ридомила Голд Р при обработке по листу позволяет снизить площади заселения листьев картофеля патогенными бактериями с 19,3% в контроле (при передаче патогена через механический контакт) и 6,9% в контроле (при передаче патогена посредством воды) до 0% в варианте с предварительной обработкой фунгицидом.

**Таблица 1-Влияние предварительной обработки препаратом Ридомил Голд Р на площадь заселения листа картофеля возбудителем чёрной ножки *Dickeya chrysanthemi***

Заселение исходного листа, %	Заселение листа контроля, %	Заселение листа обработанного фунгицидом, %
<b>Передача от листа к листу</b>		
46,4 ± 2,8	19,3 ± 2,1	0,0 ± 0,0
<b>Передача через воду</b>		
30,7 ± 1,5	6,9 ± 3,2	0,0 ± 0,0

Результаты вышеописанных опытов не только доказывают вероятность передачи патогенов обозначенными путями, но и указывают на перспективность применения данного препарата при разработке систем защиты картофеля от чёрной ножки. Третья модель демонстрировала возможность патогена продолжительное время сохраняться на металлических и пропиленовых частях орудий труда. По результатам эксперимента, представленным в Таблице 2, было установлено, что в течение первых суток после инокуляции пластин площади заселения их патогенами составляли более 17%, при этом на металлических

пластинах единичные колонии бактерий сохранились даже спустя сутки после контакта с патогеном. Предварительная же обработка пластин фунгицидом позволила снизить площади их заселения патогеном до 0%.

**Таблица 2 -Влияние предварительной обработки препаратом Ридомил Голд Р на площадь заселения пластин возбудителем чёрной ножки *Dickeya chrysanthemi***

Период инкубации, сут	Заселение пластины контроля, %	Заселение пластины обработанной фунгицидом, %
Металлическая пластина		
1	20,1 ± 3,6	0,0 ± 0,0
2	3,2 ± 1,6	0,0 ± 0,0
Полипропиленовая пластина		
1	17,9 ± 0,6	0,0 ± 0,0
2	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0

Результаты, полученные в ходе вышеописанного эксперимента, показывают возможность передачи возбудителей черной ножки картофеля посредством орудий труда в течение первых суток, однако для защищенного препаратом растения такую вероятность возможно исключить.

**Заключение.** В ходе данного исследования было установлено, что фунгицид Ридомил Голд Р обладает высокой степенью бактерицидного действия по отношению к эпифитной популяции возбудителя чёрной ножки картофеля *Dickeya chrysanthemi*. Предварительная обработка фунгицидом позволила снизить площадь заселения листа картофеля бактериями с более чем 40% в контроле до 0% в варианте с обработкой препаратом. Проведены эксперименты, моделирующие передачу патогенов от листа к листу, через воду и орудия труда, в ходе которых была показана возможность передачи заболевания вышеописанными путями и продемонстрирован защитный эффект от применения фунгицида Ридомил Голд Р.

Работа выполнена в рамках поддержки исследований молодых ученых аграрных образовательных и научных учреждений по договору между ООО «Сингента» и РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева на выполнение научно-исследовательских работ.

### Библиографический список

1. 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. – Т. 166. – №. 1. – С. 18-38.
2. 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. – Т. 43. – №. 1. – С. 1-15.
3. Pethybridge, S. J., Nelson, S. C. Leaf Doctor: A new portable application for quantifying plant disease severity //Plant disease. – 2015. – Т. 99. – №. 10. – С. 1310-1316.
4. Белов Г. Л., Зейрук В. Н., Васильева С. В. Бактериальные болезни картофеля и методы их диагностики //Защита и карантин растений. – 2016. – №. 3. – С. 30-32.