

**ОЦЕНКА ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ
PSEUDOMONAS SYRINGAE PV. *SYRINGAE*
К СРЕДСТВАМ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ***

Лагоненко В.Ю., аспирант, Кастрицкая М.С., канд. с.-х. наук

*Республиканское научно-производственное дочернее унитарное предприятие
«Институт плодоводства»
(пос. Самохваловичи, Беларусь)*

Лагоненко А.Л., канд. биол. наук. Максимова Н.П., д-р биол. наук

*Белорусский Государственный университет
(Минск, Беларусь)*

Реферат. На выделенных и идентифицированных нами ранее штаммах *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* в лабораторных условиях были протестированы фунгициды (15 наименований), внесенные в Государственный реестр средств защиты растений Республики Беларусь. В ходе исследований было установлено, что выраженными бактерицидными свойствами в условиях *in vitro* обладают 3 препарата. Мерпан подавляет развитие изолятов *P.s.* pv. *syringae* (за исключением штамма 19.10) в концентрации в 5 раз ниже рекомендуемой. Препараты Дитан Нео Тек и Силлит препятствуют росту *P.s.* pv. *syringae* *in vitro* в концентрациях в 20 и 80 раз ниже рекомендуемой, соответственно.

Ключевые слова: бактериальный рак, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, фунгициды

Summary. In laboratory 15 fungicides included in the Belarus State Register for plant protection means, were tested on 9 strains of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* isolated and identified earlier. In our studies it was found that three fungicides possess the evident bactericidal properties *in vitro*. Fungicid of Merpan inhibits growth of *P.s.* pv. *syringae* isolates (except of strain 19.10) in a concentration 5 times lower than recommended one. Fungicides of Ditan Neo Tech and Sillit *in vitro* inhibit bacterial growth in concentrations of 20 and 80 times lower than recommended one, respectively.

Key words: bacterial cancer, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, fungicides

Введение. Бактериальный рак плодовых – широко распространенное заболевание, вызываемое граммотрицательными бактериями *Pseudomonas syringae* van Hall. В Республике Беларусь наибольший вред культурам груши, вишни, черешни, сливы и пр. наносит один из патоваров этого фитопатогена – *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Пораженные растения отстают в росте, уменьшается длина однолетнего прироста, размер листовой пластинки, снижается общий урожай и вы-

* Работа выполнена в рамках проекта БРФФИ № Б19МС-001 от 02. 05. 2019 г. «Выделение и микробиологическая оценка штаммов фитопатогенных бактерий *Pseudomonas syringae*», скрининг устойчивости сортов плодовых культур к бактериальному раку»

ход товарных плодов. При скоротечной форме заболевания деревья чаще всего погибают [1, 2, 3]. Своевременное обнаружение очага позволяет максимально снизить урон от болезни и предотвратить ее дальнейшее распространение. Традиционно, для борьбы с бактериозами применяют медьсодержащие препараты. Обнаружение антибактериальной активности других фунгицидов сделает возможным их использование для контроля бактериозов.

Объекты и методы исследований. В работе использовали ранее выделенные и идентифицированные нами из пораженных культур вишни, сливы, абрикоса, груши и яблони штаммы *P.s. pv. syringae*, а также 15 наименований фунгицидов, внесенных в Государственный реестр средств защиты растений Республики Беларусь (Хорус, Строби, Скор, Топаз, Топсин, Антракол, Геокс, Миравис, Дитан Нео Тек, Полирам, Азофос, ПСК, Топазио, Мерпан и Силлит).

Культуры клеток хранили при температуре $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ в 15 % растворе глицерина. При проведении исследований культуры клеток поддерживали субкультивированием на твердой питательной среде LB-Lennox при $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. Жидкую бактериальную культуру наращивали в колбах объемом 20 мл с 5 мл жидкой среды LB-Lennox на роторной качалке (240 об/мин) при $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 24 ч [4, 5].

Чувствительность штаммов *P.s. pv. syringae* к фунгицидам и минимальную ингибирующую концентрацию препаратов определяли согласно методическим указаниям «МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания» [6].

Первичная оценка чувствительности штаммов *P.s. pv. syringae* к средствам защиты растений проводилась с использованием метода определения чувствительности микроорганизмов к препаратам на твердой питательной среде [6]. На этом этапе работы фунгициды вносили в среду в концентрациях, соответствующих нормам расхода препаратов, указанных в Государственном реестре средств защиты растений Республики Беларусь.

Обсуждение результатов. Действие 15-и фунгицидов было протестировано на 9 штаммах *P.s. pv. syringae*. Исследование показало, что внесенные в среду в максимально допустимой концентрации препараты Хорус, Скор, Топаз, Топсин, Строби, Миравис, Геокс и Топазио не оказывают влияния на рост и развитие фитопатогена; препараты Антракол, Полирами и ПСК ограничивают, но не подавляют полностью рост всех исследуемых штаммов; Азофос ограничивает рост штаммов 12.6, 14.5(1), 14.5(2) и 19.2; Мерпан (за исключением штамма 19.10), Силлит и Дитан Нео Тек полностью подавляют рост бактериальной культуры. В качестве контроля рассматривали рост бактериальной культуры на среде без добавления препарата. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Для препаратов, показавших свою эффективность в предыдущем опыте (Силлит, Дитан Нео Тек и Мерпан), концентрацию снизили в 2, 5 и 10 раз. Исследование показало, что препараты Силлит и Дитан Нео Тек эффективно подавляют рост штаммов в концентрации ниже рекомендуемой в 10 раз. Мерпан подавляет развитие исследуемых штаммов (за исключением штамма 19.10) в концентрации 0,36 мг/мл. В качестве контроля рассматривали рост бактериальной культуры на среде без препарата.

Таблица 1 – Рост штаммов *P.s. pv. syringae* на среде с максимально допустимой концентрацией АБП

Штамм / Препарат	11.9	11.11	11.12	12.6	14.5(1)	14.5(2)	19.2	19.10	20.1
Хорус (0,2 мг/мл)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Скор (0,2 мкл/мл)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Топаз (0,4 мкл/мл)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Топсин (1,5 мкл/мл)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Строби (0,2 мг/мл)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Миравис (0,25 мкл/мл)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Антракол (2,5 мг/мл)	±	±	±	±	±	±	±	±	±
Геокс (0,4 мг/мл)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Дитан Нео Тек (3 мг/мл)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Полирам (2,25 мг/мл)	±	±	±	±	±	±	±	±	±
Азофос (8 мкл/мл)	+	+	+	±	±	±	±	+	+
ПСК (4 мкл/мл)	±	±	±	±	±	±	±	±	±
Топазио (4 мкл/мл)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Мерпан (1,8 мг/мл)	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Силлит (2 мкл/мл)	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечание: (+) – препарат не подавляет рост бактерий; (-) – препарат полностью подавляет рост бактерий; (±) – препарат угнетает рост бактерий, но полностью не подавляет его; в скобках приведено значение максимально допустимой концентрации препарата.

Для определения минимальной ингибирующей концентрации фунгицидов использовали метод серийных разведений в жидкой среде [6]. Исследование проводили с использованием двух штаммов *P.s. pv. syringae* – 11.9 и 19.10. В качестве отрицательного контроля использовали жидкую бактериальную культуру соответствующих штаммов без добавления препарата. Рост бактерий, согласно методике, оценивали визуально.

Минимальная ингибирующая концентрация для препарата Силлит в отношении бактерий *P.s. pv. syringae* составила *in vitro* 0,025 мкл/мл, что в 80 раз ниже рекомендуемой к применению. Минимальная ингибирующая концентрация для препарата Дитан Нео Тек составила *in vitro* 0,15 мг/мл, что в 20 раз ниже рекомендуемой. Результаты исследования приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Рост бактериальной культуры в присутствии препарата в сравнении с контролем

Штамм	Силлит, мкл/мл						Дитаннео тек, мг/мл						Контроль
	0,2	0,1	0,05	0,025	0,0125	0,006	0,3	0,15	0,075	0,0375	0,01875	0,009	
11.9	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+
19.10	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+

Примечание: (+) – визуально определяется рост бактерий в среде; (-) – роста бактерий в среде не наблюдается.

Выводы. Бактерии *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* оказались устойчивыми к действию 12-ти из 15-ти протестированных препаратов защиты растений, внесенных в Государственный реестр средств защиты растений и удобрений (Хорус, Строби, Скор, Топаз, Топсин, Антракол, Геокс, Миравис, Полирам, Азофос, ПСК, Топазео).

Препарат Мерпан подавляет *in vitro* развитие бактерий *P.s. pv. syringae* (за исключением штамма 19.10) в концентрации 0,36 мг/мл, что в 5 раз ниже рекомендуемой к применению.

Минимальная ингибирующая концентрация для препарата Дитан Нео Тек составила *in vitro* 0,15 мг/мл, что в 20 раз ниже рекомендуемой. Минимальная ингибирующая концентрация для препарата Силлит в отношении бактерий *P.s. pv. syringae* составила *in vitro* 0,025 мкл/мл, что в 80 раз ниже рекомендуемой к применению.

Литература

1. Najafi Pour Haghghi G. Discrimination of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* isolates from different hosts in Iran using pathogenicity tests and RAPD / Najafi Pour Haghghi G, Taghavi S.M. // International Journal of AgriScience. – 2014. – Vol.4(1). – P.16-27
2. Григорьевич Л. Н. Защита плодовых деревьев от болезней в садах интенсивного типа: метод. указания. Минск : БГТУ, 2010. 16 с.
3. Chen, F. Activity of the novel fungicide SYP-Z048 against plant pathogens / F. Chen, P. Nan, P. Liu // Sci Rep. – 2015. – Vol. 4. P. 6473
4. Little, E.L. Genetic Characterization of *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae* Strains from Stone Fruits in California / E. L. Little, R.M. Bostock, B.C. Kirkpatrick // Applied and Environmental Microbiology. – 1998. – Vol. 64. - № 10. – p.3818
5. Лысак В.В., Желдакова Р.А., Фомина О.В. Микробиология. Практикум: пособие. Минск : БГУ, 2015. 12 с.
6. Электронный фонд правовой и нормативно-технической документации [Электронный ресурс]. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200038583>. – Дата доступа: 13.03.2020