




DOI: 10.22363/2312-797X-2024-19-1-122-127

EDN: AGBXEW

УДК 632.3.01/08:632.4.01/08

Научная статья / Research article

## Адаптация технологии защиты растений с учетом грибо-бактериальных ассоциаций

В.А. Платонов<sup>1</sup> , Е.М. Чудинова<sup>1</sup>  , С.Н. Еланский<sup>1,2</sup> <sup>1</sup>Российский университет дружбы народов, г. Москва, Российская Федерация<sup>2</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Российская Федерация chudinova\_em@pfur.ru

**Аннотация.** Поражение растений часто вызывается комплексами микроорганизмов, которые могут включать как виды грибов, так и бактерий. В некоторых случаях наблюдаются симбиотические отношения грибов с бактериями, что вносит существенный вклад в развитие патогенеза. Проанализирован фитопатогенный потенциал бактерий, находящихся в тесной ассоциации с грибами. Для изучения отбирали культуры грибов, не имевшие видимых (в т.ч. при микроскопировании) симптомов поражения бактериями. Методом ПЦР с праймерами на бактериальные митохондриальные гены с последующим секвенированием ампликонов в таких культурах грибов установили присутствие бактерий. Анализ данных секвенирования показал, что среди ассоциированных с грибами бактерий присутствуют виды, родственные известным фитопатогенным бактериям, вызывающим заболевания культурных растений. Полученные результаты показывают необходимость корректировки мероприятий по защите растений. Большинство химических фунгицидов неэффективны в отношении бактерий. В схемы защиты следует включать биологические, биорациональные и химические препараты, которые могут одновременно контролировать развитие грибов и бактерий. Севообороты следует проектировать таким образом, чтобы избежать чередования культур, восприимчивых к одним и тем же бактериям. Также важным элементом защиты растений является удаление или уничтожение растительных остатков.

**Ключевые слова:** фитопатогены, фитопатология, бактериальные болезни растений, грибо-бактериальные поражения, симбиоз грибов и бактерий

**Заявление о конфликте интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Участие авторов:** В.А. Платонов — сбор и обработка данных, поддержание коллекции; С.Н. Еланский — анализ полученных данных, написание текста; Е.М. Чудинова — проведение экспериментов, концепция и дизайн исследования, написание текста.

**Финансирование. Благодарности.** Работа поддержана Российским научным фондом (грант 23–26–00069).

**История статьи:** поступила в редакцию 3 декабря 2023 г., принята к публикации 28 декабря 2023 г.

© Платонов В.А., Чудинова Е.М., Еланский С.Н., 2024



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License  
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/legalcode>


**Для цитирования:** Платонов В.А., Чудинова Е.М., Еланский С.Н. Адаптация технологии защиты растений с учетом грибо-бактериальных ассоциаций // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. 2024. Т. 19. № 1. С. 122–127. doi: 10.22363/2312-797X-2024-19-1-122-127

## Adaptation of plant protection technology considering fungal-bacterial associations

Vladislav A. Platonov<sup>1</sup> , Elena M. Chudinova<sup>1</sup>  , Sergey N. Elansky<sup>1,2</sup> 

<sup>1</sup>RUDN University, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup>Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

 chudinova\_em@pfur.ru

**Abstract.** Plant infections are often caused by complexes of microorganisms that may include both fungal and bacterial species. In some cases, a symbiotic relationship between fungi and bacteria is observed, which makes a significant contribution to the development of pathogenesis. The work analyzes the phytopathogenic potential of bacteria associated with fungi. Fungal cultures that did not have visible (including microscopy) symptoms of bacterial damage were selected for study. Using PCR with primers for bacterial mitochondrial genes followed by sequencing of amplicons in such fungal cultures, the presence of bacteria was established. Analysis of sequencing data showed that among the bacteria associated with fungi there were species related to known phytopathogenic bacteria that cause diseases of crops. The results obtained show the need to adjust plant protection measures. Most chemical fungicides are ineffective against bacteria. Protection schemes should include biological, biorational and chemical agents that can simultaneously control the development of fungi and bacteria. Crop rotations should be designed to avoid alternating crops susceptible to the same bacteria. Another important element of plant protection is the removal or destruction of plant residues.

**Key words:** phytopathogens, phytopathology, bacterial plant diseases, fungal-bacterial interactions, fungal-bacterial endosymbiosis

**Conflict of interests.** The authors declare that they have no conflict of interests.

**Author Contributions:** V.A. Platonov — data collection and processing, collection maintenance; S.N. Elansky — data analysis, writing the paper; E.M. Chudinova — conducting experiments, experiment design planning, writing the paper.

**Acknowledgments.** The research was funded by the Russian Science Foundation (grant no. 23–26–00069).

**Article history:** Received: 3 December 2023. Accepted: 28 December 2023.

**For citation:** Platonov VA, Chudinova EM, Elansky SN. Adaptation of plant protection technology considering fungal-bacterial associations. *RUDN Journal of Agronomy and Animal Industries*. 2024;19(1):122–127. doi: 10.22363/2312-797X-2024-19-1-122-127

## Введение

По данным ООН, ежегодные мировые потери потенциального урожая всех сельскохозяйственных культур от вредителей и болезней составляют около 23 % валового сбора. Очень часто в пораженных частях растений находится целый комплекс патогенных микроорганизмов. Иногда трудно определить, какой из ми-

кроорганизмов является первопричиной поражения растения. В некоторых случаях возможен симбиоз грибов с бактериями, способствующий более эффективному поражению растения. Самый известный пример такого взаимодействия описан в статье Partida-Martinez и Hertweck [1]. Бактерии *Burkholderia rhizoxinica* — эндосимбионты гриба *Rhizopus microsporus* — способны выделять токсин ризоксин, нарушающий нормальное функционирование клеток растений риса. Снижение иммунитета растений риса позволяет грибу *R. microsporus* внедриться в ткани растений. Штаммы грибов *R. microsporus*, лишённые эндобионных бактерий *B. rhizoxinica*, не способны поражать растения риса. Некоторые бактерии могут стимулировать образование хламидоспор, толстая оболочка которых позволяет пережить пересыхание и температурные колебания. В лабораторных условиях *R. solanacearum* вызвала хламидообразование у 34 видов мицелиальных грибов из разных таксонов. Более того, было показано, что *R. solanacearum* проникала внутрь хламидоспоры [2]. По-видимому, бактерии могут переживать суровые условия окружающей среды в хламидоспорах. Эндобионные бактерии широко распространены среди представителей царства грибов. Группа ученых из США, Бразилии и Швейцарии протестировала около 700 коллекционных штаммов грибов, принадлежащих разным таксономическим группам. В большинстве культур грибов были обнаружены бактерии, в т. ч. в тех культурах, которые хранились в коллекции несколько лет [3]. Сложные симбиотические и патогенные отношения между растениями, грибами и бактериями к настоящему времени плохо изучены, однако их необходимо учитывать при разработке мероприятий по защите растений.

**Цель исследования** — изучение бактерий, ассоциированных с гифами грибов, выделенных с растений семейства Пасленовые (*Solanaceae*), а также оценка фитопатологического потенциала бактериального компонента.

## Материалы и методы исследования

В работе использовали штаммы грибов из коллекции чистых культур агробиотехнологического департамента АТИ РУДН. Все исследуемые штаммы не имели видимых симптомов загрязнения другими микроорганизмами, в т. ч. бактериями. Грибы инкубировали на картофельно-глюкозном агаре с добавлением пенициллина (бензилпенициллина натриевая соль, 1 млн ед./л). Для выделения ДНК мицелий грибов выращивали на жидкой гороховой среде. ДНК выделяли как описано в [4], после чего проводили ПЦР-реакцию по бактериальным праймерам к участку ДНК 16S рибосомной РНК (27c/519r-ТТb) [5]. ПЦР-продукты разделяли с помощью электрофореза в агарозном геле и визуализировали наличие ПЦР-продукта на транс-иллюминаторе. В случае, если на фореze была видна 1 четкая полоса, ПЦР-продукт вырезали из геля, очищали и секвенировали. Для очистки ДНК использовали набор Cleanup Mini Kit (Евроген, Россия). Для определения таксономической принадлежности анализируемых бактерий полученную последовательность сравнивали с последовательностями, депонированными в базе данных

Genbank NCBI с помощью программы Blast. При необходимости использовали филогенетические построения с помощью программы Mega 10.

## Результаты исследования и обсуждение

Наличие бактерий удалось достоверно выявить в 28 штаммах грибов из видов *Ceratobasidium* sp., *Cladosporium cladosporioides*, *Ilyonectria crassa*, *Fusarium avenaceum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. merismoides*, *F. merckxianum*, *F. oxysporum*, *F. torulosum*, *Orbilia oligospora*, *Plectoshaerella cucumerina*, *Pyrenochaeta* sp., *Rhizoctonia solani*, выделенных из растений картофеля и томата. Эти бактерии принадлежали к следующим таксономическим единицам: *Achromobacter* sp., *Acinetobacter* sp., *Clostridium* sp., *Delftia* sp., *Flavobacterium* sp., *Herbaspirillum* sp., *Klebsiella* sp., *Kosakonia* sp., *Lelliottia* sp., *Luteolibacter* sp., *Pantoea* sp., *Pseudomonas* sp., *Rahnella* sp., *Serratia* sp., *Stenotrophomonas* sp.

Согласно литературным данным, некоторые из этих родов бактерий могут быть патогенными для растений. На роль патогена картофеля претендует бактерия *Lelliottia* sp. {OR462719} (здесь и далее в фигурных скобках приведены номера депонированных в базе Genbank NCBI последовательностей), присутствие которой обнаружено в *Fusarium oxysporum*, выделенным из клубня картофеля в Московской области. Штамм PC3 *Lelliottia amnigena* {OK447935} был найден на клубнях картофеля (*Solanum tuberosum* L.) с мацерированной мякотью и явными признаками бактериального поражения в окрестностях города Ланьчжоу (Китай) [6]. Другой вид патогенной *Lelliottia* обнаружен на растении из семейства колокольчиковых *Codonopsis pilosula* в Китае [7]. В штамме *Fusarium oxysporum*, выделенном из клубня картофеля, выращенного в Уганде, мы обнаружили бактерии, относящиеся к роду *Kosakonia* {OL762470}. Сходная по сиквенсу *Kosakonia cowanii* {MN327620} поражает листья сои (*Glycine max*) [8]. Известны штаммы *K. cowanii*, вызывающие увядание растения из семейства губоцветных *Pogostemon cablin* [9], бактериальный вилт у могоара (*Setaria italica*) {ON125560} [10]. Патогенность могут проявлять и бактерии, относящиеся к роду *Pantoea*, которые также были идентифицированы в культурах грибов рода *Fusarium* из нашей коллекции {OR462708, OR460188}. Согласно литературным данным, *Pantoea agglomerans* {HM854282} может поражать проростки риса (*Oryza sativa*) [11], являться причиной загнивания лука (*Allium cepa*) [12], вызывать пятнистость листьев у китайского таро (*Alocasia cucullata*) [13]. Штамм HXJ {HM016799} вызывает потемнение и преждевременное опадение плодов у грецкого ореха (*Juglans regia*) [14], штамм PGHL10 {EF050809} вызывает пятнистость на листьях кукурузы (*Zea mays*) [15]. *P. agglomerans* pv. *gypsophilae* стимулировала появление галлов у *Gypsophila paniculata*, *P. agglomerans* pv. *betae* поражает свеклу (*Beta vulgaris*), при этом патогенность этих бактерий обусловлена наличием плазмиды [16]. Одна из выявленных нами бактерий, относящаяся к таксону *Pseudomonas* {OR462691}, родственна штаммам *Pseudomonas oryzihabitans*, поражающим рис (*Oryza sativa*) [17], дыню (*Cucumis melo*) {MW187499} [18] и грецкий орех (*Juglans regia*) {OR195734} [19].

Таким образом с грибами, выделенными с растений семейства Пасленовые, ассоциированы бактерии, которые могут быть патогенными не только для растений этого семейства, но и для широкого круга других растений. Тесная ассоциация грибов с бактериями, способность к совместному развитию патогенеза должны учитываться при разработке систем защиты растений. Бактерии более уязвимы, хуже переносят пересыхание, колебания температуры, чем грибы; однако способность бактерий проникать в мицелий или споры грибов делает бактериальные инфекции более опасными. Большинство химических фунгицидов неэффективны против бактерий. Для борьбы с бактериальными поражениями используют препараты биологического происхождения на основе *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, метаболиты *Streptomyces* spp. (макролидный тилозиновый комплекс, фитобактериомицин, касугамицин), также применяют коллоидное серебро и препараты, содержащие йод<sup>1</sup>. Некоторые препараты контролируют развитие грибов и бактерий одновременно. Именно этим препаратам следует отдавать предпочтение в защите растений от грибо-бактериальных инфекций. Также эффективным способом борьбы с болезнями является правильная организация севооборотов, однако в связи с тем, что грибы могут быть носителями бактерий, патогенных для различных растений, следует очень тщательно подходить к планированию чередования культур. В технологии защиты от грибо-бактериальными болезнями, несомненно, необходимы мероприятия по своевременному удалению или уничтожению растительных остатков.

## Заключение

Многие грибы тесно связаны с бактериями. Бактерии могут распространяться и переживать неблагоприятные условия с помощью грибов. Патогенность грибов может быть обусловлена бактериальным компонентом, в связи с чем фунгициды могут не оказать должного защитного действия.

Для борьбы с грибо-бактериальными инфекциями в растениеводстве следует тщательно конструировать севообороты, включать в систему защиты биологические и химические препараты, контролирующие развитие как грибов, так и бактерий, удалять или уничтожать растительные остатки.

## Список литературы

1. Partida-Martinez L.P., Hertweck C. Pathogenic fungus harbours endosymbiotic bacteria for toxin production // Nature. 2005. Vol. 437. P. 884–888. doi: 10.1038/nature03997
2. Spraker J.E., Sanchez L.M., Lowe T.M., Dorrestein P.C., Keller N.P. *Ralstonia solanacearum* lipopeptide induces chlamydospore development in fungi and facilitates bacterial entry into fungal tissues // ISME J. 2016. Vol. 10. P. 2317–2330. doi: 10.1038/ismej.2016.32
3. Robinson A.J., House G.L., Morales D.P., Kelliher J.M., Gallegos-Graves V., LeBrun E.S., Davenport K.W., Palmieri F., Lohberger A., Bregnard D., Estoppey A., Buffi M., Paul C., Junier T., Hervé V., Cailleau G., Lupini S., Nguyen H.N., Zheng A.O., Gimenes L.J., Bindschedler S., Rodrigues D.F., Werner J.H., Young J.D., Junier P., Chain P.S.G. Widespread bacterial diversity within the bacteriome of fungi // Communications biology. 2021. Vol. 4(1). P. 1168. doi: 10.1038/s42003-021-02693-y

<sup>1</sup> Государственный каталог пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации, 2023.

4. Elansky S.N., Chudinova E.M., Elansky A.S., Kah M.O., Sandzhieva D.A., Mukabenova B.A., Dedov A.G. Microorganisms in spent water-miscible metalworking fluids as a resource of strains for their disposal // *Journal of Cleaner Production*. 2022. Vol. 350. № 131438. doi: 10.1016/j.jclepro.2022.131438
5. Lane D.J. 16S/23S rRNA sequencing / In: Stackebrandt E., Goodfellow M. (Eds.), *Nucleic acid techniques in bacterial systematics* / John Wiley and Sons, New York, 1991. P. 115–175.
6. Osei R., Yang C., Cui L., Ma T., Li Z., Boamah S. Isolation, identification, and pathogenicity of *Lelliottia amnigena* causing soft rot of potato tuber in China // *Microb Pathog*. 2022. Vol. 164. № 105441. doi: 10.1016/j.micpath.2022.105441
7. Zhao X., Tian Y., Yue L., Liu Y., Yan Y., Zhou Q., Wang Y., Zhang Y., Wan R. Identification and characterization of pathogenicity of *Lelliottia nimipressuralis* causing soft rot of *Codonopsis pilosula* (dangshen) roots in China // *Plant Pathol*. 2022. Vol. 71(8). P. 1801–1811. doi: 10.1111/ppa.13606
8. Krawczyk K., Borodynko-Filas N. *Kosakonia cowanii* as the New Bacterial Pathogen Affecting Soybean (*Glycine max* Willd.) // *Eur J Plant Pathol*. 2020. Vol. 157. P. 173–183. doi: 10.1007/s10658-020-01998-8
9. Zhang Y., Wang B., Li Q., Huang D., Zhang Y., Li G. He H. Isolation and Complete Genome Sequence Analysis of *Kosakonia cowanii* Pa82, a Novel Pathogen Causing Bacterial Wilt on Patchouli // *Front. Microbiol*. 2022. Vol. 12. № 818228. doi: 10.3389/fmicb.2021.818228
10. Han Y., Gao X., Huang G., Chang Y., Han H., Zhu J., Zhang B. *Kosakonia cowanii*, a new bacterial pathogen affecting foxtail millet (*Setaria italica*) in China // *Microbial Pathog*. 2023. Vol. 181. № 106201. doi: 10.1016/j.micpath.2023.106201
11. Lee H.B., Hong J.P., Kim S.B. First report of leaf blight caused by *Pantoea agglomerans* on rice in Korea // *Plant Dis*. 2010. Vol. 94(11). P. 1372. doi: 10.1094/PDIS-05-10-0374
12. Dutta B., Barman A.K., Srinivasan R., Avci U., Ullman D.E., Langston D.B., and Gitaitis R.D. Transmission of *Pantoea ananatis* and *P. agglomerans*, causal agents of center rot of onion (*Allium cepa*), by onion thrips (*Thrips tabaci*) through feces // *Phytopathology*. 2014. Vol. 104. P. 812–819. doi: 10.1094/phyto-07-13-0199-r
13. Romeiro R.S., Macagnan D., Mendonça H.L., Rodrigues Neto J. Bacterial spot of Chinese taro (*Alocasia cucullata*) in Brazil induced by *Pantoea agglomerans* // *Plant Pathol*. 2007. Vol. 56. P. 1038. doi: 10.1111/j.1365-3059.2007.01631
14. Yang K.Q., Qu W.W., Liu X., Liu H.X., Hou L.Q. First report of *Pantoea agglomerans* causing brown apical necrosis of walnut in China // *Plant Dis*. 2011. Vol. 95(6). P. 773. doi: 10.1094/pdis-01-11-0060
15. Morales-Valenzuela G., Silva-Rojas H.V., Ochoa-Martinez D., Valadez-Moctezuma E., Alarcon-Zuniga B., Zelaya-Molina L.X., Cordova-Tellez L., Mendoza-Onofre L., Vaquera-Huerta H., Carballo-Carballo A., Farfan-Gomez A., Avila-Quezada G. First report of *Pantoea agglomerans* causing leaf blight and vascular wilt in maize and sorghum in Mexico // *Plant Dis*. 2007. Vol. 91(10). P. 1365. doi: 10.1094/PDIS-91-10-1365A
16. Manulis S. and Barash I. *Pantoea agglomerans* pvs. gypsophilae and betae, recently evolved pathogens? // *Molecular Plant Pathology*. 2003. Vol. 4. P. 307–314. doi: 10.1046/j.1364-3703.2003.00178.x
17. Hou Y., Zhang Y., Yu L., Ding X., Liu L., Wang L., Huang S. First Report of *Pseudomonas oryzae* causing rice panicle blight and grain discoloration in China // *Plant Dis*. 2020. Vol. 104. № 3055. doi: 10.1094/PDIS-10-19-2186-PDN
18. Li J., Zhou G., Wang T., Lin T., Wang Y., Zhu P., Xu L., Ma G. First report of *Pseudomonas oryzae* causing stem and leaf rot on muskmelon in China // *Plant Dis*. 2021. Vol. 105(9). P. 2713. doi: 10.1094/PDIS-01-21-0100-PDN
19. Huai T., Zhao J., Zhang X., He H., Zhu X., Ma H., Zhang L., Zhao P., Liu X., Si D. First Report of *Pseudomonas oryzae* Causing Walnut Leaf Spot Disease in China // *Plant Dis*. 2023. doi: 10.1094/PDIS-08-23-1634-PDN

#### Об авторах:

Платонов Владислав Андреевич — аспирант агробиотехнологического департамента аграрно-технологического института, Российский университет дружбы народов, Российская Федерация, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8; e-mail: vlad97p@gmail.com

ORCID: 0009-0008-9719-5815

Чудинова Елена Михайловна — кандидат биологических наук, доцент агробиотехнологического департамента аграрно-технологического института, Российский университет дружбы народов, Российская Федерация, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8; e-mail: chudinova\_em@pfur.ru

ORCID: 0000-0003-3157-494X SPIN: 6688–8116

Еланский Сергей Николаевич — доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник Евразийского центра по продовольственной безопасности, МГУ им. М.В. Ломоносова, Российская Федерация, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12; профессор агробиотехнологического департамента аграрно-технологического института, Российский университет дружбы народов, Российская Федерация, 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8; e-mail: elanskiy\_sn@pfur.ru

ORCID: 0000-0003-1697-1576 SPIN: 6827–8026