



ISSN 1727-1320 (Print),
ISSN 2308-6459 (Online)

В Е С Т Н И К ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ

PLANT PROTECTION NEWS

2020 ТОМ **103** ВЫПУСК **2**
VOLUME ISSUE



БАКТЕРИАЛЬНЫЙ РАК ПЛОДОВЫХ, ЯГОДНЫХ И ДЕКОРАТИВНЫХ КУЛЬТУР, ВЫЗЫВАЕМЫЙ *AGROBACTERIUM* SPP.

А.М. Лазарев^{1*}, А.Н. Игнатов^{2,3}, М.В. Воронина²

¹Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

²ООО Исследовательский Центр «ФитоИнженерия», Московская обл.

³Российский университет дружбы народов, Москва

* ответственный за переписку, e-mail: allazar54@mail.ru

Известно более 100 семейств растений (84 – двудольных), плодовых, ягодных и декоративных культурах, поражаемых бактериальным раком (англ.: “crown gall” – корончатый галл), вызываемым *Agrobacterium tumefaciens* и бактериями близких видов и даже родов альфа-протобактерий, например, *Allorhizobium vitis*. Приведены сведения по таксономическому положению патогена, симптоматике больных растений и почвенно-климатические условия, наиболее благоприятные для развития заболевания. Даны морфолого-культуральные, физиолого-биохимические и некоторые генетические признаки его возбудителя. Очерчены ареал и зона вредоносности корневого рака плодовых культур на территории Российской Федерации и ряда соседних стран. Приведены методики оценки вредоносности бактериоза и некоторые результаты проверки устойчивости растений к его возбудителю, а также освещены меры борьбы с указанным заболеванием.

Ключевые слова: бактериальный рак, таксономия, патогенез, распространенность, вредоносность, меры борьбы

Поступила в редакцию: 01.05.2019

Принята к печати: 02.05.2020

Корневой рак (“crown gall” – корончатый галл) – заболевание растений с симптомами пролиферации тканей стебля или корня растения, вызываемое при переносе в клетки растения *Ti*-плазмиды из вирулентной бактерии *Agrobacterium tumefaciens* (син. *Rhizobium radiobacter*). Внешне болезнь проявляется в виде галлов, наростов, опухолей на надземных или подземных органах растений. В данном обзоре не рассматривается заболевание, вредоносное в России в защищенном грунте при гидропонном (малообъемном) выращивании растений, вызываемое группой штаммов *A. tumefaciens*, несущие другой тип плазмид – *Ri*, которые вызывают разрастание корней (бородатость корней, «бешенство корней») (Eng.: “crazy roots”) или корневой мат (Eng.: “root mat”).

Невирулентные (лишенные *Ti/Ri*-плазмиды) штаммы агробактерии присутствуют повсеместно в почве, воде, в окружении растений, составляя значительную часть типичной микробиоты (Escobar, Dandekar, 2003).

Корневой рак поражает практически все покрытосеменные двудольные древесные и кустарниковые плодовые, ягодные, декоративные культуры, а также однолетние технические (подсолнечник, рапс и др.) и овощные (морковь, свёклу, томат, капусту белокочанную и т.д.) растения, принадлежащие многим семействам этого класса растений.

Среди покрытосеменных растений 58% проанализированных видов двудольных оказались неустойчивы (всего 596 видов), они принадлежали к 76% изученных семейств растений (всего 84 семейства). Напротив, среди однодольных всего 8% изученных авторами видов, представляющих 10% изученных родов, оказались восприимчивыми (De Cleene, De Ley, 1976). Все они принадлежали порядкам Liliales и Arales.

Патоген редко поражает грибы и низшие растения, хотя образование опухолей после искусственной инокуляции описано для слизевика *Physarum polycephalum*

Schwein, (Мухоморы, Мухоморы, шампиньоны *Agaricus campestris* L. (Fungi, Basidiomycetes), красных водорослей сем. Florideae (Rhodophyta), папоротника орляка обыкновенного *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn (Pteridophyta, Filices) и мха *Pylaisiella selwynii* Kindb., (Hypnaceae, Bryophytes).

Среди голосеменных известно по меньшей мере 38 восприимчивых к патогену видов различных семейств в классе Coniferopsida. Определено, что в семействах Cupressaceae и Taxaceae восприимчивые виды содержат меньше хинной и шикимовой кислот (De Cleene, De Ley, 1976).

Корневой рак вредоносен в большинстве стран Европы, Азии, Африки, Америки и в других регионах (Lopez, 1978; Sawada et al., 1990, 1993; Bouzar et al., 1991; Lastra et al., 2000; Argun et al., 2002; Soriful et al., 2010; Vizitiu (Bălăsoiu), Dejeu, 2011; Abdellatif et al., 2013). Он наносит значительные выпады растений в садах, питомниках и теплицах, и потери урожая плодовых и ягодных культур на территории Российской Федерации в местах интенсивного выращивания восприимчивых культур в открытом грунте и повсеместно – в защищенном грунте (Бурдинская, Арестова, 2010; Макаркина и др., 2017; Лазарев и др., 2017; Бунцевич и др., 2018; Воронина, 2018). Наибольший экономический ущерб отмечают в открытом грунте – плодовым и ягодным питомникам, виноградарикам, декоративным растениям и овощным культурам в теплицах (Гвоздык и др., 2011; Воронина, 2018).

Из зоны первичного широкого распространения (юг Европейской части РФ) границы ареала постепенно продвигаются на север и восток, что связывают с изменением климата (Бунцевич и др., 2017). Вредоносность бактериоза в России и странах Восточной Европы значительно увеличилась с начала 1990-х годов, что было вызвано созданием большого числа небольших коммерческих питомников плодовых и декоративных растений, которые не обеспечивают надлежащий фитосанитарный контроль при

размножении растений. В последние годы новым значительным источником инфекции стали предприятия защищенного грунта, в которых закрепились как возбудитель корневого рака (в основном, на декоративных культурах), так и возбудитель бородастости корней (Воронина, 2018).

На основании сбора и анализа материалов по распространенности и вредоносности бактериоза на территории Российской Федерации и ряда соседних стран нами оформлена специальная векторная карта (Афонин и др., 2008) встречаемости и вредоносности заболевания, которая была наложена на карту распространения поражаемых культур (Точенов и др., 1984). Она состоит из двух тематических слоев, характеризующих зону распространения и зону высокой вредоносности болезни на культурных растениях. Зона вредоносности определена для тех регионов, где могут поражаться более 10% растений, и включает южные области России и соседние с Российской Федерацией страны – Украину, Молдову, Азербайджан (Нагапетян, Казарян, 1980; Мялова, 1990; Магер, 1991; Афонин и др., 2008; Лазарев и др., 2017).

Возбудитель данного заболевания – бактерия *Agrobacterium tumefaciens* (син. *Rhizobium radiobacter*) Beijerinck, van Delden 1902 (Young et al. 2001), принадлежит к порядку Rhizobiales; семейство Rhizobiaceae; род *Rhizobium*, вид свободноживущих почвенных альфа-протеобактерий, который исторически описан как две линии синонимов:

1) почвенный вид бактерий *R. radiobacter* впервые был описан М.В. Бейеринком (M.W. Beijerinck) и А. ван Делденом (A. van Delden) в 1902 г. под названием «*Bacillus radiobacter*». F. Löhnis в 1905 г. перенес его в род *Bacterium*, E. Pribram в 1933 г. – в *Rhizobium*, D.H. Bergey в 1934 г. – в *Achromobacter*, H.J. Conn в 1939 г. – в *Alcaligenes*, и он же в 1942 г. – в род *Rhizobium* (Kado, 2014);

2) фитопатогенная бактерия этого вида была выделена из опухоли на маргаритке (Smith, Townsend, 1907) под названием «*Bacterium tumefaciens*» (в названии была отражена способность бактерии вызывать опухоли на растениях). Затем вид перенесли в другие роды (*Pseudomonas*, *Phytomonas*, *Polymonas*), и, наконец, в 1942 г. классифицировали его как *A. tumefaciens* (Smith, Townsend 1907) Conn 1942 (Conn, 1942).

В 1993 г. группа японских микробиологов предложила отменить название *A. tumefaciens* как нелегитимный синоним названия *A. radiobacter* (Beijerinck, van Delden) Conn (Sawada et al., 1993). В 2006 г. уже целый ряд систематиков предложили перевести виды *Agrobacterium* (в т.ч. *A. tumefaciens*) в род *Rhizobium*, в результате чего обе линейки синонимов вида слились бы в *Rhizobium radiobacter* (Beijerinck, van Delden) (Young et al., 2006). Далее, было предложено один из видов – *Agrobacterium vitis*, перенести во вновь созданный род *Allorhizobium* (Mousavi et al., 2014).

Тем не менее, до сих пор специалисты активно используют оба названия в научной литературе: *Agrobacterium* – в фитопатологической, *Rhizobium* – в микробиологической. В настоящее время в пределах рода *Agrobacterium* выделяют 10 видов бактерий, специализирующихся, преимущественно, на растениях-хозяевах отдельных видов и родов, а микробиологический вид «*A. tumefaciens* complex», в свою очередь, включает 10 геномовидов, определяемых,

в основном, по генетическому или геномному разнообразию (Kado, 2014).

Клетки возбудителя болезни – палочки, подвижные благодаря 1–3 перитрихальным жгутикам, грамотрицательные, неспороносные. Облигатные аэробы. Рост патогена на средах с углеводами сопровождается обильное образование внеклеточной полисахаридной слизи. Патоген развивается при 0–37°C, оптимальная температура роста 25–30°C, термальная точка гибели в растениях 51°C. Оптимальный диапазон развития в чистой культуре – pH 6.0–9.0 (Conn, 1942).

Хотя патоген, вызывавший бактериальный рак винограда, был выделен еще в 1897 году и описан в 1907 (см. выше), долгое время неизвестными оставались механизмы патогенеза этой болезни. Еще в 1974 году было сделано предположение, что патоген использует перенос плазмиды для инфицирования растения-хозяина (Roberts, Kerr, 1974), но понадобились годы работы, чтобы установить факт и механизм переноса *Ti/Ri* – плазмиды из клетки патогена в клетку растения-хозяина, и также роль отдельных генов в образовании опухоли и патогенеза в целом (Kado, 2014). Патогенные штаммы рода *Agrobacterium* несут в себе, по меньшей мере, одну большую (более 200 тыс. п.о.) *Ti/Ri*-плазмиду. Вирулентность штамма определяют различные участки плазмиды, включая транспортируемую в растительную клетку ДНК (Т-ДНК), и гены вирулентности (*vir*-гены). Белки, кодируемые генами вирулентности, служат посредниками в передаче Т-ДНК в пораженные растительные клетки (Chilton et al., 1980).

Начиная с 1980-х гг., *Ti/Ri* – плазмиды стали основой генной инженерии растений путем переноса генов (Kado, 2014). Несмотря на всю важность возбудителя для биологической науки и сельского хозяйства, есть очень ограниченное число исследований генетического разнообразия *Agrobacterium* spp. (Bosmans et al., 2015). Вероятно, сложность классификации этих бактерий вызвана частым переходом плазмид, определяющих вирулентность, между родственными альфа-протеобактериями. Штаммы *Ochrobactrum*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium* с *Ri*-плазмидой, перенесенной из *Agrobacterium* spp., показали частоту заражения тест-растений от 44 до 75%, сравнимую с таковой, или даже выше, чем у исходного штамма фитопатогена (64%) (Weller et al., 2004).

Для оценки патогенности штаммов возбудителя бактериоза наилучшими растениями-индикаторами считают каланхое и томат (побеги и листья), корнеплоды моркови и свеклы, 2–3-месячные сеянцы миндаля и абрикоса, 5-дневные проростки тыквенных культур (Магер, 1991; Воронина, 2018). Возбудитель бактериального рака проникает в растение через механические повреждения корней и стебля (повреждения ветром, вредителями, прививкой и окулировкой, орудиями труда при защите растений и обработке почвы и др.).

Известно, что агробактериальная Т-ДНК содержит гены синтеза опинов – сложных веществ, состоящих из аминокислот и сахаров или органических кислот, специфически используемых агробактерией в качестве источника углерода и азота. Известно около 40 различных типов опинов, при этом некоторые из них способны стимулировать перенос *Ti*-плазмиды от бактерии к бактерии, расширяя спектр генетического разнообразия популяции

патогена (Flores-Mireles et al., 2012). Согласно «опиновой гипотезе», синтез опинов инфицированным растением увеличивает выживание бактерий, способных их метаболизировать (Lang et al. 2014). Оценка растений на устойчивость к *Agrobacterium* spp. обычно проводят по отношению к представителям разных опиновых групп (например, сукцинампиновой (*L,L*-succinamopine), нопалиновой (nopaline), октопиновой (octopine) и кукумопиновой (cucumopine). Правильное хранение штаммов (криоконсервация при -70 – 80 °C или лиофилизация) должно гарантировать чистоту и вирулентность используемых бактерий. Бактериальную культуру патогена для инокуляции выращивают в жидкой среде LB при 28 °C. Растения повреждают множественными надрезами длиной 3 мм с промежутками по 1 см вокруг стебля, при этом инокулюм вносят в надрез немедленно. Оценка реакции растений на заражение проводят через 3–5 недель после инокуляции. В зависимости от условий (температуры, сезона, устойчивости и возраста растений), период появления симптомов может длиться более 5 недель. Подсчитывают частоту возникновения опухолей относительно числа мест инокуляции и измеряют размер опухолей (Bailey et al., 1994). Степень развития симптомов зависит от вида растения, концентрации инокулюма, температуры и размера повреждения ствола дерева. Например, для винограда оптимальная температура после заражения составляет 28 °C, а оптимальная концентрация суспензии патогена – 10^9 КОЕ/мл, размер поранений ствола – 3.1 мм² (Yun et al., 2003).

При изучении влияния степени поражения саженцев патогеном Магером М.К. (1991) предложена трехбалльная шкала: I балл – саженцы с единичными мелкими опухолями диаметром меньше 1 см; II балла – саженцы с опухолями площадью до 5 см²; III балла – саженцы с опухолями от 5 до 10 см² и более. Пораженные растения группируют по признакам проявления болезни (поражение корневой шейки и главного корня или поражение только боковых корней). Для выявления очагов болезни и определения процента пораженных растений на территории питомника обследуют по 200 растений каждого типа на 10–20 учетных площадках, расположенных по диагонали участка (Бунцевич и др., 2012).

Оценка сортовых различий в восприимчивости растений проведена для немногих культур. В частности, первые результаты по винограду были опубликованы еще в 1910–е годы. Классические сорта *Vitis vinifera* L. (Шардене, Рислинг, Мерло, Каберне Совиньон и др.) оказались восприимчивыми к патогену, в то время как сорта и клоны вида *Vitis riparia* Mitchx (*Riparia Gloire*) – высокоустойчивыми. Клоны вида *Vitis labrusca* и гибридные сорта, в основном, менее восприимчивы, чем растения *V. vinifera* L., за исключением клонов Chancellor и Niagara. Среди подвойных клонов Courderc 3309, 101-14 Mgt и *Riparia Gloire* были устойчивыми, а Teleki 5C и 110 Richter – восприимчивыми. Определенную проблему создает разнообразие штаммов *Agrobacterium* spp., используемых для оценки реакции сортов плодовых и ягодных культур. Наличие в природе нескольких различных штаммов бактерий при инфицировании существенно затрудняет оценку реакции растений (Burr, Otten 1999).

В отличие от большинства фитопатогенных бактерий, данный патоген не убивает растительные клетки, а

стимулирует их нерегулярное деление за счёт генетической трансформации указанной плазмидой, что ведет к клеточной пролиферации (гиперплазии), которая заканчивается формированием корончатых галлов (для штаммов с *Ti*-плазмидой), или многочисленных корней (для штаммов с *Ri*-плазмидой). Считается, что патоген можно обнаружить только в молодых наростах. На начальной стадии патогенеза наросты, мелкие, мягкой консистенции, быстро растущие, белого цвета, позднее темнеющие, приобретающие бугристость и твердость. Напротив, штаммы с *Ri*-плазмидой могут проникать в сосудистую систему растения, распространяться до генеративных органов и вызывать заражение семян (Воронина, 2018). Проникновение патогена в генеративные органы растения сделало возможным наследование фрагментов *Ti/Ri*-плазмид целым рядом покрытосеменных растений, в том числе видами рода *Nicotiana* (White et al., 1983).

Ускоренное развитие инфицированной растительной ткани наблюдается при высокой температуре воздуха (30–35 °C) и при относительной влажности воздуха не менее 95%. Особенно патоген вредоносен для культур в защищенном грунте. На активизацию или затухание инфекционного процесса влияет кислотность почвы: нейтральная или слабощелочная среда его развитию способствует, а кислая – наоборот, ослабляет. Наросты вызывают частичную закупорку проводящих сосудов, в результате чего в стебле/стволе серьезно нарушается передвижение воды и сока, поэтому больные растения значительно замедляют свое развитие. У таких растений преждевременно желтеют листья, растения истощаются, постепенно усыхают и, в конечном итоге, погибают. Пораженные корончатым галлом деревья и кустарники сильнее повреждаются вредителями, ветром и заморозками, что приводит к поражению вторичными грибными и бактериальными патогенами и впоследствии – к гибели растений (Магер, 1991).

Микробиота молодых корончатых галлов представлена, в основном, бактериями видов *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae* spp. и *Agrobacterium* spp. (Faist et al., 2016), хотя на более поздних стадиях количество выделяемых видов возрастает (Воронина, 2018).

Группа *Staphylococcus sciuri* Kloos et al. и *Staphylococcus* spp. составляла 32% от общего числа изолятов, выделенных из галлов розы. Группа *Pseudomonas* spp. (24%) включала несколько известных патогенов растений, например, *Pseudomonas syringae* Van Hall и ризосферных видов, например, *Pseudomonas putida* Trevisan. 16% выделенных изолятов принадлежали виду *Erwinia toletana* Rojas et al. Известно, что этот вид ассоциирован с наростами (галлами) на оливковых деревьях (*Olea europaea* L.), вызываемыми бактерией *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (Janse) Gardan, et al. Как показали исследования, совместное заражение растений непатогенной бактерией *E. toletana* и патогеном *P. savastanoi* приводило к повышению вредности болезни. Предполагается, что *E. toletana* выделяет N-ацил-гомосериновые лактоны (N-acyl homoserine lactone), являющиеся универсальными сигналами механизма «quorum-sensing», что способствует формированию стабильного межвидового сообщества бактерий в растительной ткани (Hosni et al., 2011). Агробактерии также могут быть акцепторами сигналов, синтезируемых *E. toletana*. В результате изучения микробиологического

состава корончатых галлов розы были выделены бактерии, выступающие в качестве типичных фитопатогенов (*Erwinia rhapontici* Winslow et al., *Pantoea ananatis* Gavini et al.), эндофитов (*Pantoea agglomerans* Gavini et al., *S. sciuri*, *Enterobacter* spp.) или ризосферных бактерий (*P. putida*, *Pseudomonas* spp.) (Воронина, 2018).

Наши данные показывают, что микробиота ризосферы растений, пораженных *Agrobacterium* sp., преимущественно принадлежит порядкам Flavobacteriales, Rhizobiales, Pseudomonadales, Sphingobacteriales, Burkholderiales, Alteromonadales, Xanthomonadales и Enterobacteriales. Доля бактерий таксона Rhizobiales, родственных *Agrobacterium* sp., существенно выше в ризосфере растений, выращиваемых в гидропонной культуре защищенного грунта на минеральной вате (включая декоративные культуры и саженцы) (25–26% всех бактерий), чем на органическом субстрате (6.6–8.1%). При заражении растений корончатый галлом и бородастостью корней микроорганизмы *Agrobacterium* spp. становились преобладающей частью представителей таксона Rhizobiales (32–72.7%). При поражении растений увеличивалась доля бактерий таксона Flavobacteriales (почти в 2 раза), и выявлялось существенное (1–2%) количество пектолитических Enterobacteriales (в контроле не обнаружены). Полученные результаты свидетельствуют о том, что ризосферное бактериальное сообщество может играть важную роль в развитии болезни растений, вызванной *Agrobacterium* spp. (Воронина, 2018; Ignatov et al., 2017).

Меры борьбы с данным заболеванием включают, в основном, широкий спектр агротехнических приемов, так как разрешенные химические и биологические препараты для его подавления в РФ отсутствуют (Список пестицидов и агрохимикатов..., 2020). Среди средств, прошедших испытания, можно назвать паурин – биопрепарат на основе *P. fluorescens* CR 330D, который применяется для профилактики заболевания в опытных питомниках в Молдове (Леманова, Магер, 2011). Имеются положительные отзывы по применению для профилактики заболевания в РФ и за рубежом целого ряда неvirulentных штаммов *A. radiobacter* (Магер, 1991; Hao et al. 2018). Большая часть испытанных в полевых и лабораторных условиях антагонистов агробактерий принадлежали *Paenibacillus* spp. (Bosmans et al., 2017; Воронина, 2018), *Bacillus subtilis* (Ehrenberg), *Bacillus cereus* (Frankland, Frankland), *Pantoea agglomerans* (Ewing, Fife), *Rahnella aquatilis* Gavini et al., *Acinetobacter calcoaceticus* Beijerinck, *Acinetobacter venetianus* Di Cello et al. и *Enterobacter Ludwigi* Hoffman et al. (Habbadi et al., 2017).

Агробактериальный рак был одной из первых болезней растений, для которой был успешно испытан метод подавления экспрессии генов вирулентности при помощи малых (интерферирующих) РНК (Escobar et al., 2001). К сожалению, разнообразие штаммов патогена и растений-хозяев вносит неопределенность в результаты применения такого метода защиты растений (Albuquerque et al., 2017).

Комплекс агротехнических мероприятий включает, прежде всего, проверку почвы методом ПЦР на зараженность вирулентными штаммами *A. tumefaciens* при закладке плодовых питомников, применение устойчивых

сортов сельскохозяйственных культур, заготовку черенков для прививки от здоровых деревьев и кустов, обязательную дезинфекцию рабочего инструмента после каждого растения при обрезке и прививке, обработку черенков и молодых растений разрешенными для плодовых, ягодных культур и винограда средствами защиты растений для повышения иммунитета и снижения эпифитной популяции патогена, химическую борьбу с насекомыми и нематодами – переносчиками патогена (Гвоздяк и др., 2011; Бунцевич и др., 2018; Воронина, 2018).

Известно, что штаммы группы *A. tumefaciens* характеризуются относительной устойчивостью к ряду известных антибиотиков, кроме наиболее высокотоксичных и малоспецифичных. Практические испытания антагонистов рода *Bacillus*, по сравнению с Фитоплазмином–ВРК и препаратом серебра Зерокс®, показывают высокую эффективность биологического метода защиты против этого патогена. Так, в течение 3 месяцев было достигнуто снижение количества галлов на растениях розы на 20% от первоначального, в то время как в контрольном варианте (обработка водой) оно выросло на 30% (Ходыкина и др., 2014; Makarov et al., 2017; Воронина, 2018).

В Европейском Союзе традиционно применяют методы диагностики и идентификации патогена, основанные на выделении бактерий и идентификации её серологических и биохимических признаков (Manulis et al., 2002). Большинство бактерий, присутствующих на корнях растений, в воде или почве, принадлежат непатогенному виду *A. radiobacter*, поэтому микробиологические методы часто не могут выявить присутствие патогенных форм из-за их низкой доли на фоне огромной популяции родственных бактерий. Как уже было указано, сложность классификации фитопатогенных бактерий *Agrobacterium* spp. во многом вызвана переходом плазмид, определяющих вирулентность, между родственными альфа-протеобактериями (Weller et al., 2004), при этом стимулирование переноса плазмид опинами играет важную роль в адаптации популяции патогена (Flores–Mireles et al., 2012). Так как профилактика корневого рака винограда, плодовых и декоративных культур усугубляется наличием у его возбудителя длительной латентной (скрытой) формы, проведение ПЦР-анализа является обязательным приемом выявления скрытой бактериальной инфекции в посадочном материале (Бурдинская, Арестова, 2010; Макаркина и др., 2017; Воронина, 2018).

Постоянно предлагаются новые методы диагностики патогена, основанные на ПЦР, рекомбиназно-полимеразной амплификации (Recombinase Polymerase Amplification) и других современных технологиях (Fuller et al., 2017). Однако, как отмечено выше, из-за разнообразия природной популяции патогена (Weller et al., 2004; Bosmans et al., 2015) диагностируют молекулярным методом вполне определенные формы патогена. В последние годы, в изучении природных популяций фитопатогенных бактерий наметился прорыв, связанный с широким применением метагеномного секвенирования (Brenig et al. 2010). Этот метод способен выявить все формы факторов вирулентности бактерии, и дать объективную классификацию патогена, присутствующего в конкретном образце.

Библиографический список (References)

- Афонин АН, Грин СЛ, Дзюбенко НИ, Фролов АН, ред (2008) Агрэкологический атлас России и сопредельных государств: экономически значимые растения, их вредители, болезни и сорные растения. URL: <http://www.agroatlas.ru> (04.02.2019)
- Бунцевич ЛЛ, Винтер МА, Щербаков НА (2018) Оздоровление питомников сливы и других косточковых культур от бактериального рака, совместные методические подходы. *Плодоводство и виноградарство Юга России* 50(2). <http://journalkubansad.ru/aut/711/>
- Бурдинская ВФ, Арестова НО (2010) Латентная зараженность винограда бактериальным раком. *Защита и карантин растений* 10:38–39
- Воронина МВ (2018) Фитопатогенные бактерии рода *Agrobacterium*: генетическое разнообразие, диагностика, меры защиты: Автореф. дисс. ... к.б.н. М. 21 с.
- Гвоздяк РІ, Пасічник ЛА, Яковлева ЛМ, Мороз СМ и др. (2011) Фітопатогенні бактерії. Бактеріальні хвороби рослин. Київ. 444 с. <http://journalkubansad.ru/pdf/18/02/06.pdf>
- Лазарев АМ, Мыслик ЕН, Варицев ЮА, Зайцев ИА и др. (2017) Ареалы и зоны вредоносности основных бактериозов растений на территории Российской Федерации и сопредельных стран. Приложение к журналу «Вестник защиты растений» 24. СПб.: ВИЗР. 136 с.
- Леманова НВ, Магер МК (2011) Биологический контроль бактериального рака *Agrobacterium tumefaciens*. *Защита и карантин растений* 6:25–27
- Магер МК (1991) Бактериальный корневой рак (*Agrobacterium tumefaciens* Smith et Towns.) плодовых культур и меры борьбы с ним: Автореф. дисс. ... к.б.н. Прилуки Минской обл. 22 с.
- Макаркина МВ, Ильницкая ЕТ, Степанов ИВ (2017) Идентификация агробактерий методом ПЦР в растениях винограда с признаками поражения бактериальным раком в ампелоценозах Краснодарского края. *Российская сельскохозяйственная наука* 4:39–42
- Мялова ЛА (1990) Корневой рак плодовых культур в условиях юга Украины и меры борьбы с ними. Материалы конференции. Фитонциды. Бактериальные болезни растений. Киев–Львов 2:129–130
- Нагапетян ЖА, Казарян ЛВ (1980) Поражаемость виноградников Араратской равнины бактериальным раком. Состояние и перспективы развития научных исследований по предотвращению резистентности у вредителей и возбудителей болезней к пестицидам и разработка эффективных мер борьбы с бактериальными болезнями растений (тезисы докладов). М.:122–123
- Список пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории Российской Федерации (2020). Справочное издание. 832 с.
- Точенов ВВ, Марков ВФ, Беляева ЛИ и др, ред (1984) Атлас СССР. М.: ГУГК. 260 с.
- Ходыкина МВ, Политыко ВА, Кырова ЕИ, Крутяков ЮА и др (2014) Антибактериальная активность антибиотиков в сочетании с препаратом серебра Зерокс® против возбудителей ряда бактериозов растений. *Защита картофеля* 2:83–86
- Abdellatif E, Valentini F, Janse JD, Bourri M et al (2013) Occurrence of crown gall of the grapevine in Tunisia and characterization of Tunisian *Agrobacterium vitis* and *A. tumefaciens* strains. *J Plant Pathol* 95(1):115–126
- Albuquerque N, Faize L, Burgos L (2017) Silencing of *Agrobacterium tumefaciens* oncogenes ipt and iaaM induces resistance to crown gall disease in plum but not in apricot. *Pest Manage Sci* 73(10):2163–2173
- Argun N, Momol MT, Maden S, Momol E et al (2002) Characterization of *Agrobacterium vitis* strains isolated from Turkish grape cultivars in the central Anatolia region. *Plant Disease* 86:162–166
- Bailey MA, Boerma HR, Parrott WA. (1994) Inheritance of *Agrobacterium tumefaciens*-induced tumorigenesis of soybean. *Crop Sci* 34(2):514–519
- Bosmans L, Álvarez-Pérez S, Moerkens R, Wittemans L, Van Calenberge B, Kerckhove SV, Paeleman A, De Mot R, Rediers H, Lievens B (2015) Assessment of the genetic and phenotypic diversity among rhizogenic *Agrobacterium* biovar 1 strains infecting solanaceous and cucurbit crops. *FEMS Microbiol Ecol* 91(8):fiv081
- Bosmans L, De Bruijn I, Gerards S, Moerkens R et al (2017) Potential for biocontrol of hairy root disease by a *Paenibacillus* clade. *Front Microbiol* 8:447
- Brenig B, Beck J, Schütz E (2010) Shotgun metagenomics of biological stains using ultra-deep DNA sequencing. *Forensic Science International: Genetics*. 4(4):228–231
- Burr T, Otten JL (1999) Crown gall of grape: biology and disease management. *Ann Rev Phytopathol* 37 (1):53–80
- Chilton MD, Saiki RK, Yadav N, Gordon MP et al (1980) T-DNA from *Agrobacterium* Ti plasmid is in the nuclear DNA fraction of crown gall tumor cells. *Proc Nat Acad Sci USA* 77(7):4060–4064
- Conn HJ (1942) Validity of the genus *Alcaligenes*. *Journal of Bacteriology* 44:353–360
- De Cleene M, De Ley J (1976) The host range of crown gall. *Botany Rev* 42:389–466
- Escobar MA, Civerolo EL, Summerfelt KR, Dandekar AM (2001) RNAi-mediated oncogene silencing confers resistance to crown gall tumorigenesis. *Proc Nat Acad Sci USA* 98(23):13437–13442
- Escobar MA, Dandekar AM (2003) *Agrobacterium tumefaciens* as an agent of disease *Trends Plant Sci* 8 (8):380–386
- Faist H, Keller A, Hentschel U, Deeken R (2016) Grapevine (*Vitis vinifera*) crown galls host distinct microbiota *Appl Environ Microbiol* 8 (18):5542–5552
- Flores-Mireles AL, Eberhard A, Winans SC (2012) *Agrobacterium tumefaciens* can obtain sulphur from an opine that is synthesized by octopine synthase using S-methylmethionine as a substrate *Mol Microbiol* 84:845–856
- Fuller SL, Savory EA, Weisberg AJ, Buser JZ et al (2017) Isothermal amplification and lateral-flow assay for detecting crown-call-causing *Agrobacterium* spp. *Phytopathol* 107(9):1062–1068
- Hao L, Kemmenoe DJ, Orel DC, Burr T (2018) The Impacts of Tumorigenic and Nontumorigenic *Agrobacterium vitis* Strains on Graft Strength and Growth of Grapevines. *Plant Disease* 102(2):375–381
- Hosni T, Moretti C, Devescovi G, Suarez-Moreno ZR et al (2011) Sharing of quorum-sensing signals and role of interspecies communities in a bacterial plant disease. *The ISME J* 5(12):1857–1870
- Ignatov AN, Khodykina MV, Vinogradova SV, Polityko VA et al (2016) First report of *Agrobacterium radiobacter vitis* causing crown galls of wine grape in Russia. *Plant Disease* 100(4):853
- Ignatov AN, Khodykina MV, Kromina KA, Dzhililov FSU (2017) Dynamics of microorganisms in hydroponic system of cucumber in response to *Agrobacterium* bv1 (root mat) infection. *SUITMA* 9 <http://www.suitma-russia.com/index.php/ru/home-ru/whatisuitma-ru>
- Kado CI (2014) Historical account on gaining insights on the mechanism of crown gall tumorigenesis induced by *Agrobacterium tumefaciens*. *Front Microbiol* 5:340–350
- Lang J, Vigouroux A, Planamente S., El Sahili A et al (2014). *Agrobacterium* uses a unique ligand-binding mode for trapping opines and acquiring a competitive advantage in the niche construction on plant host. *PLoS Pathog* 10:e1004444
- Lastra B, Llop P, Lopez MM (2000) Characterization of *Agrobacterium* strains isolated from grapevine in Galicia (Spain). *Proc Congr Eur Found Plant Pathol. Taormina (Italy)*:178–179
- Lopez MM (1978) Characteristics of French isolates of *Agrobacterium*. *Proc. 4th Int. Conf Plant Pathog Bact. Angers, France*:233–237

- Manulis S, Chalupowicz L, Dror O, Kleitman F (2002) Molecular diagnostic procedures for production of pathogen-free propagation material. *Pest Manag Sci* 58(11):1126–1131
- Mousavi SA, Österman J, Wahlberg N, Nesme X, Lindström K et al (2014) Phylogeny of the Rhizobium–Allorhizobium–Agrobacterium clade supports the delineation of *Neorhizobium* gen. nov. *Syst Appl Microbiol* 37(3):208–215
- Habbadi K, Benkirane R, Benbouazza A, Bouaichi A et al (2017) Biological control of grapevine crown gall caused by *Allorhizobium vitis* using bacterial antagonists. *Int J Science Res* 6:1390–1397
- Roberts WP, Kerr A (1974) Crown gall induction: serological reactions, isozyme patterns and sensitivity to mitomycin C and to bacteriocin, of pathogenic and non-pathogenic strains of *Agrobacterium radiobacter*. *Physiol Plant Pathol* 4:81–92
- Sawada H, Ieki H, Oyaizu H, Matsumoto S (1993) Proposal for rejection of *Agrobacterium tumefaciens* and revised descriptions for the genus *Agrobacterium* and for *Agrobacterium radiobacter* and *Agrobacterium rhizogenes*. *Int J Syst Evol Microbiol* 43(4):694–702
- Sawada H, Ieki H, Takikawa Y (1990) Identification of grapevine crown gall bacteria isolated in Japan. *Ann Phytopath Soc Japan* 56:199–206
- Smith EF, Townsend CO (1907) A plant-tumor of bacterial origin. *Science* 25:671–673
- Tindall BJ (2014) *Agrobacterium radiobacter* (Beijerinck and van Delden 1902) Conn 1942 has priority over *Agrobacterium tumefaciens* (Smith and Townsend 1907) Conn 1942 when the two are treated as members of the same species based on the principle of priority and Rule 23a, Note 1 as applied to the corresponding specific epithets. Opinion 94. *Int J Syst Evol Microbiol* 64 (10):3590–3592
- Vizitiu (Bălăsoiu) D, Dejeu L (2011) Crown gall (*Agrobacterium* spp.) and grapevine. *J Hortic, Forestry Biotechnol* 15(1):130–138
- Weller SA, Stead DE, Young JP (2004) Acquisition of an *Agrobacterium* Ri plasmid and pathogenicity by other α -Proteobacteria in cucumber and tomato crops affected by root rot. *Appl Environ Microbiol* 70(5):2779–2785
- White FF, Garfinkel DJ, Huffman GA, Gordon MP, Nester EW (1983) Sequences homologous to *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA in the genomes of uninfected plants. *Nature* 301(5898):348–350
- Young JM, Pennycook SR, Watson DRW (2006) Proposal that *Agrobacterium radiobacter* has priority over *Agrobacterium tumefaciens*. *Int J Syst Evol Microbiol* 56(2):491–493
- Yun HK, Roh JH, Park KS, Cha JS et al (2003) Screening system for crown gall resistance by pathogen inoculation in grapes. *Hortic Sci Technol* 21(4):325–328

Translation of Russian References

- Afonin AN, Grin SL, Dzyubenko NI, Frolov AN, eds (2008) *Agrotologicheskiy atlas Rossii i sopredelnykh gosudarstv: ekonomicheski znachimye rasteniya, ih vraditeli, bolezni i sornye rasteniya* [Agro-ecological atlas of Russia and adjacent states: economically significant plants, their pests, diseases and weed plants (Internet version 2.0)] (In Russian) <http://www.agroatlas.ru> (04.02.2019)
- Buntsevich LL, Vinter MA, Shcherbakov NA (2018) *Ozдорovlenie pitomnikov slivye i drugih kostochkovykh kultur ot bakterialnogo raka, sovmestnye metodicheskie pohodye* [Improvement in nurseries of plums and other stone fruits (drupes) crown-gall control, general method approaches Fruit growing and viticulture of the South of Russia] 50 (02) (In Russian) <http://journalkubansad.ru/aut/711/>
- Burdinskaya VF, Arestova NO (2010) *Latentnyy zarazhennoy vinograda bakterialnim rakom* [Latent infection of the grape with crown-gall]. *Protection and quarantine of plants* 10:3839 (In Russian)
- Gvozdiak RI, Pasichnik LA, Yakovlev LM, Moroz SM et al (2011) *Fitopatogenni bakterii. Bakterial'ni hvorobi roslin*. [Phytopathogenic bacteria. Bacterial diseases of plants]. Kiev. 444 p. (In Russian.). <http://journalkubansad.ru/pdf/18/02/06.pdf>
- Khodikina MV, Polytyko VA, Kyrova EI, Krutyakov YuA et al (2014) *Antibakterialnaya aktivnost antibiotikov v sochetanii s preparatom srebra Zeroks® protiv vzbuditelei ryada bakteriozov rasteniy* [Antibacterial activity of antibiotics in combination with a preparation of silver Zeroks® against bacterial pathogens of plants. *Protection of potatoes*] 2:83–86 (In Russian)
- Lazarev AM, Mysnyk EN, Varitsev YuA, Zaitsev IA et al (2017) *Arealy i zony vredonosnosti osnovnykh bakteriozov rasteniy na territorii Rossiyskoy Federatsii i sopredel'nykh stran. Areas and zones of harm of the main bacterial diseases of plants on the territory of Russia and neighboring countries* [Areas and zones of harm of the main bacterial diseases of plants on the territory of Russia and neighboring countries] Appendix to the J “*Plant Protection News*” 24. St. Petersburg: VIZR. 136 p. (In Russian)
- List of pesticides and agrochemicals permitted for use on the territory of the Russian Federation. Reference Edition (2020). M. 832 p. (In Russian)
- Mager MK (1991) *Bakterialnyy kornevoy rak (Agrobacterium tumefaciens Smith et Towns.) plodovykh kultur i mery borby s nim* [Bacterial crown-gall (*Agrobacterium tumefaciens* Smith et Towns.) of fruit cultures and measures to protect them]. Abstr PhD Biol Thesis. Priluki Minsk oblast. 22 p. (In Russian)
- Makarkina MV, Ilnitskaya ET, Stepanov IV (2017) *Identifikatsiya agrobakteriy metodom PTZR v rasteniyakh vinograda s priznakami porazheniya v ampelotsenozah Krasnodarskogo kraya* [Identification of agrobacteria by PCR method in grapevine plants with symptoms of crown-gall in ampeloceneses of the Krasnodar Territory]. *Rus Agr Sci* 4:39–42 (In Russian)
- Myalova LA (1990) *Kornevoy rak plodovykh kultur v usloviyakh uga Ukrainye i mery borby s nimi. Materialye konferentsii. Fitontsidy. Bakterialnyye bolezni rasteniy* [Crown-gall of fruit crops in the conditions of southern Ukraine and measures to control it. Materials of the conference. Phytoncides. Bacterial diseases of plants]. Kiev–Lvov 2:129–130 (In Russian)
- Nahapetyan ZhA, Kazaryan LV (1980) *Porazhayemost vinogradnikov Araratskoy ravniny bakterialnym rakom. Sostoyaniye i perspektivy razvitiya nauchnykh issledovaniy po predotvrashcheniyu rezistentnosti u vreditel'ey i vzbuditeley bolezney k pestitsidam i razrabotka effektivnykh mer borby s bakterial'nymi boleznyami rasteniy (tezisy dokladov na 4 mitin)* [The damage of Vineyards of the Ararat Plain by crown-gall Status and Prospects for the Development of Scientific Research on the Prevention of Pest and Pest Disease Pest Resistance and the Development of Effective Measures for Combating Bacterial Diseases of Plants (Theses of Reports for 4 meeting). Moscow:122–123 (In Russian)
- Tochenov VV, Markov VF, Belyaev LI et al, eds. (1984) *Atlas SSSR* [Atlas of the USSR]. Moscow:GUGK. 260 p. (In Russian)
- Voronina MV (2018) *Fitopatogennyye bakterii roda Agrobacterium: geneticheskoye raznoobraziye, diagnostika, mery zashchity* [Phytopathogenic bacteria of the genus *Agrobacterium*: genetic diversity, diagnosis, control]. Abstr PhD Thesis. Moscow. 21 p. (In Russian)

CROWN GALL DISEASE OF FRUIT TREES, BERRY PLANTS
AND ORNAMENTALS CAUSED BY *AGROBACTERIUM* SPP.

A.M. Lazarev^{1*}, A.N. Ignatov^{2,3}, M.V. Voronina²

¹All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

²Research Center “PhytoEngineering”, Rogachevo, Moscow region, Russia

³Russian University of Peoples’ Friendship, Moscow, Russia

*corresponding author, e-mail: allazar54@mail.ru

Over 100 families of plants (including 84 dicotyledonous) are affected by crown gall disease of fruit trees, berries and ornamental crops, caused by *Agrobacterium tumefaciens* and bacteria of related species and genera, for instance *Allorhizobium vitis*. The information on the symptoms of diseased plants in during vegetation and the soil-climatic conditions most favorable for the disease is presented. Taxonomy, morphological, physiological, and genetic properties of the causative agent are described. Area of harmfulness caused by the disease to crops in the territory of Russian Federation and neighboring countries is outlined. Methods of estimation of plant reaction to the pathogen, some resistant accessions, as well as measures of control with this disease are given.

Keywords: crown gall disease, taxonomy, symptomatology, prevalence, harmfulness, control measures

Received: 01.05.2019

Accepted: 02.05.2020