
БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

BIOTECHNOLOGY AND MICROBIOLOGY

УДК 581.2

ВИРУЛЕНТНЫЕ СВОЙСТВА ПЕКТОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОБРАЗЦОВ РАСТЕНИЙ НА ТЕРРИТОРИИ БЕЛАРУСИ

ШАО ЧЭНЮЕ¹⁾, А. Н. ЕВТУШЕНКОВ¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Фитопатогенные бактерии *Pectobacterium carotovorum*, *P. parmentieri* и *P. brasiliense*, выделенные из растений на территории Беларуси, различались по способности поражать ткани картофеля, моркови, лука и пекинской капусты при искусственном заражении. Высоковирулентными оказались штаммы видов *P. carotovorum* и *P. brasiliense*. Слабой вирулентностью характеризовались бактерии *P. parmentieri*, что выражалось в низкой эффективности заражения растений лука, моркови, пекинской капусты и в меньших, чем у других исследованных видов бактерий, показателях мацерацирующей и пектатлиазной активности.

Ключевые слова: мягкая гниль; вирулентность; пектатлиаза; картофель; *P. brasiliense*; *P. parmentieri*; *P. carotovorum*.

Образец цитирования:

Шао Чэньюе, Евтушенко АН. Вирулентные свойства пектобактерий, выделенных из образцов растений на территории Беларуси. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2023;2:44–51.
EDN: RAKYZR

For citation:

Shao Chengyue, Evtushenkov AN. Virulent properties of pectobacteria isolated from plant samples on the territory of Belarus. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2023;2:44–51. Russian.
EDN: RAKYZR

Авторы:

Шао Чэньюе – аспирант кафедры молекулярной биологии биологического факультета. Научный руководитель – А. Н. Евтушенко.

Анатолий Николаевич Евтушенко – доктор биологических наук, профессор; заведующий кафедрой молекулярной биологии биологического факультета.

Authors:

Shao Chengyue, postgraduate student at the department of molecular biology, faculty of biology.

520095424@qq.com

Anatoli N. Evtushenkov, doctor of science (biology), full professor; head of the department of molecular biology, faculty of biology.

evtushenkov@bsu.by

<https://orcid.org/0000-0002-2755-6979>

VIRULENT PROPERTIES OF PECTOBACTERIA ISOLATED FROM PLANT SAMPLES ON THE TERRITORY OF BELARUS

SHAO CHENGYUE^a, A. N. EVTUSHENKOV^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliezhnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: A. N. Evtushenkov (evtushenkov@bsu.by)

The phytopathogenic bacteria *Pectobacterium carotovorum*, *P. parmentieri* and *P. brasiliense* isolated from plants on the territory of Belarus differed in their ability to infect potato, carrot, onion and Chinese cabbage tissues with artificial infection. Strains of species *P. carotovorum* and *P. brasiliense* turned out to be highly virulent. Bacteria *P. parmentieri* were characterised by low virulence, which was manifested in the low efficiency of infection of onion, carrot, Chinese cabbage plants and reduced macerating and pectate lyase activities.

Keywords: soft rot; virulence; pectate lyase; potato; *P. brasiliense*; *P. parmentieri*; *P. carotovorum*.

Введение

Бактерии родов *Dickeya* и *Pectobacterium* являются возбудителями черной ножки картофеля и мягкой гнили различных видов растений. Ранее они относились к группе *carotovora* [1], позже на основании анализа последовательностей генов 16S рРНК и основных белков были выделены как самостоятельные роды в новом семействе Pectobacteriaceae [2].

Пектобактерии имеют широкий круг хозяев и инфицируют как сельскохозяйственные культуры, так и декоративные растения (например, картофель, томаты, кукурузу, капусту, свеклу, салат, перец, морковь, хризантемы). Бактерии родов *Dickeya* и *Pectobacterium* включены в топ-10 фитопатогенных бактерий [3]. Только в европейских странах потери продукции сельского хозяйства от пектобактерий оцениваются в десятки миллионов долларов США [4; 5].

Мягкая гниль и черная ножка картофеля считаются болезнями, передаваемыми семенными клубнями. Источником инфекции могут быть почва, остатки растений, насекомые, нематоды или сельскохозяйственные машины [6; 7]. Мягкая гниль проявляется в мацерации внутренних тканей клубней картофеля, а черная ножка характеризуется поражением тканей основания стебля с последующим хлорозом, увяданием листьев и снижением образования клубней [8]. Эти бактериозы возникают в результате действия на стенки растительных клеток комплекса ферментов, таких как пектиназы, целлюлазы и протеазы [9].

В настоящее время эффективные средства контроля мягкой гнили и черной ножки картофеля отсутствуют [5]. Для уменьшения вреда от патогенов осуществляют посев качественными клубнями (проверка на заражение) и удаление зараженных растений в период вегетации. Во многих странах налажены регулярный мониторинг видового состава бактерий родов *Dickeya* и *Pectobacterium* на растениях картофеля и изучение их вирулентности, что позволяет повысить эффективность контроля посевного материала [10].

Бактерии семейства Pectobacteriaceae являются доминирующими возбудителями мягкой гнили овощей и черной ножки картофеля в нашем регионе [11–13]. Интенсивный обмен посевным материалом приводит к быстрому распространению фитопатогенных бактерий, поэтому необходим постоянный мониторинг фитопатогенов для выявления новых опасных видов. Целью данного исследования являлось изучение вирулентных свойств бактерий семейства Pectobacteriaceae, выделенных ранее при бактериозах растений в Беларуси, для определения наиболее опасных фитопатогенов.

Материалы и методы исследования

В работе использовали 66 штаммов бактерий рода *Pectobacterium*, которые были выделены из образцов растений с симптомами мягкой гнили (клубни картофеля, морковь, капуста) и черной ножки (стебли картофеля), собранных на территории Беларуси. Штаммы идентифицированы до вида на основании изучения биохимических свойств и проведения ПЦР с видоспецифическими праймерами [13]. Бактерии выращивали при температуре 28 °С на картофельном агаре или полноценной питательной среде (LB).

Заражение растений. Бактерии выращивали в жидкой среде LB в течение ночи, центрифугировали, промывали 0,85 % раствором NaCl, ресуспендировали в том же растворе до оптической плотности при длине волны 600 нм, соответствующей плотности суспензии $3 \cdot 10^8$ клеток на 1 мл. Клубни картофеля

(сорт Палац) поверхностно стерилизовали 70 % этанолом, затем вводили шприцем 20 мкл бактериальной суспензии и изолировали рану пленкой Parafilm (*Amtcor Flexibles North America*, США). Зараженные клубни картофеля помещали в эксикатор при температуре 28 °С и относительной влажности воздуха от 70 до 80 %. Через 48 ч после инокуляции определяли массу мацерированной ткани и сохраняли образцы при температуре –20 °С до измерения ферментативной активности. Вымытые корнеплоды моркови стерилизовали 70 % этанолом, разрезали на ломтики толщиной 1 см с соблюдением стерильности и переносили на увлажненный стерильный фильтр в чашки Петри, далее вводили шприцем 20 мкл бактериальной суспензии и помещали образцы в термостат при температуре 28 °С на 48 ч. Заражение листьев пекинской капусты и чешуй лука осуществляли аналогично (путем введения 20 мкл бактериальной суспензии), после чего инкубировали образцы в течение 48 ч при температуре 28 °С. Через 48 ч после инокуляции измеряли площадь зоны поражения.

Анализ пектатлиазной активности в мацерированной ткани. К 500 мг образца мацерированной ткани в пробирке типа «эппендорф» добавляли 500 мкл дистиллированной воды, гомогенизировали наконечником пипетки и центрифугировали для получения неочищенного ферментного экстракта. Определение пектатлиазной активности осуществляли в супернатантах путем регистрации с помощью спектрофотометра увеличения оптической плотности реакционной смеси при длине волны 235 нм и температуре 30 °С, как описано ранее в работе [14].

Все исследования проводили в 3–5-кратной биологической повторности. Статистическую обработку результатов выполняли с использованием программы *Excel 2010* (*Microsoft*, США). Данные представлены как среднее значение ± ошибка среднего значения.

Результаты и их обсуждение

В работе изучали вирулентные свойства 66 штаммов 3 видов пектобактерий (*P. carotovorum*, *P. parmentieri* и *P. brasiliense*) путем заражения клубней картофеля, корнеплодов моркови, листьев пекинской капусты и чешуй лука. Характерные для мягкой гнили симптомы появлялись в течение 2 сут (рис. 1).

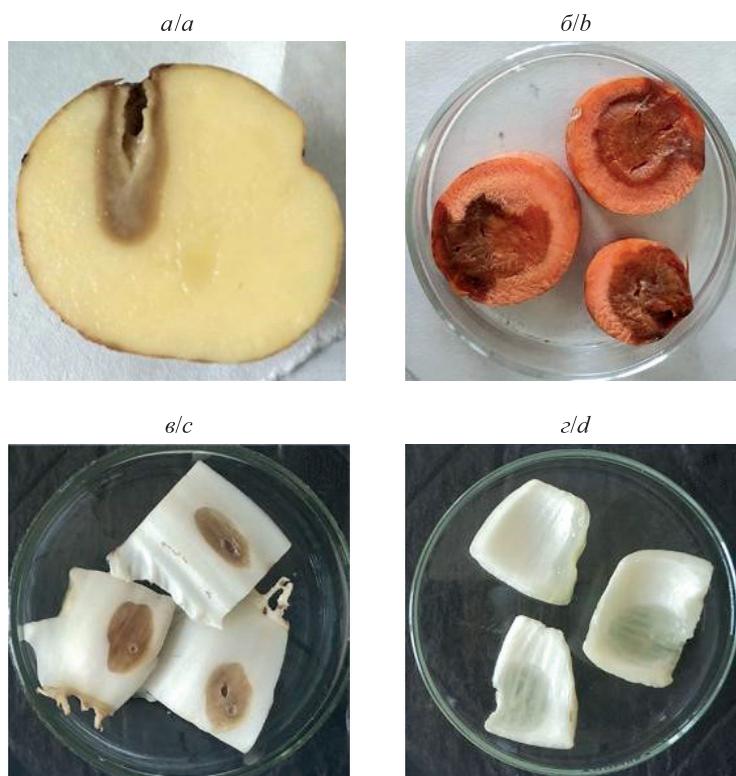


Рис. 1. Развитие мягкой гнили при заражении растений штаммом *P. carotovorum* 003-9: а – клубень картофеля; б – срезы корнеплода моркови; в – листья пекинской капусты; г – чешуи лука

Fig. 1. The development of soft rot when plants are infected with strain *P. carotovorum* 003-9: а – potato tuber; б – carrot root crop slices; в – Chinese cabbage leaves; д – onion scales

Ткани зараженных растений размягчались, зона поражения выглядела более темной и влажной. Контрольные образцы, инокулированные физиологическим раствором, не изменялись. Сравнение способности изучаемых штаммов 3 видов пектобактерий вызывать поражение тканей 4 видов растений показало, что наиболее широкий круг хозяев имеют штаммы вида *P. brasiliense*. Несмотря на то что все они были изолированы из пораженных вегетирующих стеблей и клубней картофеля [13], 6 штаммов (85,71 %), кроме картофеля, поражали морковь и пекинскую капусту, а 4 штамма (57,14 %) – все взятые в исследование сельскохозяйственные культуры. Обратная картина наблюдалась для штаммов вида *P. parmentieri*. Они также были выделены из картофеля [13] и успешно мацерировали ткани его клубней, но при этом поражение других растений могли вызывать менее 50 % исследуемых штаммов. Для бактерий вида *P. carotovorum* вне зависимости от источника их выделения характерен широкий круг хозяев, из которого несколько выпадает лук: только 26,19 % штаммов этого вида вызывали поражение чешуй лука. В целом можно отметить, что растения лука в наименьшей степени поражаются всеми 3 видами пектобактерий (табл. 1).

Таблица 1

Эффективность заражения растений бактериями
P. carotovorum, *P. parmentieri* и *P. brasiliense*

Table 1

Effectiveness of infection of plants
with *P. carotovorum*, *P. parmentieri* and *P. brasiliense* bacteria

Вид бактерий	Общее количество штаммов	Доля штаммов, %, вызвавших поражение			
		клубней картофеля	срезов корнеплода моркови	листьев пекинской капусты	чешуй лука
<i>P. carotovorum</i>	42	100	88,10	97,62	26,19
<i>P. parmentieri</i>	17	100	29,41	47,06	11,76
<i>P. brasiliense</i>	7	100	85,71	85,71	57,14

Вирулентные свойства пектобактерий оценивали по степени мацерации зараженных тканей растений (рис. 2).

Как следует из рис. 2, изучаемые виды пектобактерий различались по степени мацерации тканей картофеля, моркови, пекинской капусты и лука. Более эффективно ткани испытуемых растений мацерировали бактерии *P. carotovorum* и *P. brasiliense*. В большей степени они поражали ткани пекинской капусты, моркови и картофеля, в меньшей степени – ткани лука. Бактерии *P. brasiliense* сильнее мацерировали ткани клубней картофеля и корнеплодов моркови даже в сравнении с бактериями *P. carotovorum*, что подтверждает ранее высказанное предположение об их высокой вирулентности [15]. Штаммы вида *P. parmentieri* значительно слабее мацерировали ткани моркови, пекинской капусты и лука, чем штаммы видов *P. carotovorum* и *P. brasiliense*. Исходя из этого, можно предположить, что бактерии *P. parmentieri* имели более низкую вирулентность.

В образцах пораженных тканей измеряли пектатлиазную активность. Пектатлиаза считается основным фактором вирулентности пектобактерий. Она представлена множеством изоферментов с большим спектром ферментативной активности, что позволяет бактериям поражать широкий круг растений различной таксономической принадлежности [9]. Пектатлиазная активность регистрировалась в образцах пораженных тканей всех исследуемых растений (табл. 2).

Таблица 2

Пектатлиазная активность бактерий *P. carotovorum*, *P. parmentieri* и *P. brasiliense*
в пораженных тканях растений, Е/мл

Table 2

Pectate lyase activity of bacteria *P. carotovorum*, *P. parmentieri* and *P. brasiliense*
in affected plant tissues, E/mL

Вид бактерий	Картофель	Морковь	Пекинская капуста	Лук
<i>P. carotovorum</i>	0,215 ± 0,029	0,215 ± 0,057	1,254 ± 0,307	0,070 ± 0,014
<i>P. parmentieri</i>	0,156 ± 0,027	0,027 ± 0,005	0,136 ± 0,017	0,015 ± 0,005
<i>P. brasiliense</i>	0,239 ± 0,034	0,079 ± 0,018	0,384 ± 0,08	0,019 ± 0,007

Примечание. Значения пектатлиазной активности, полученные для каждого штамма одного вида бактерий, суммировали и делили на число штаммов.

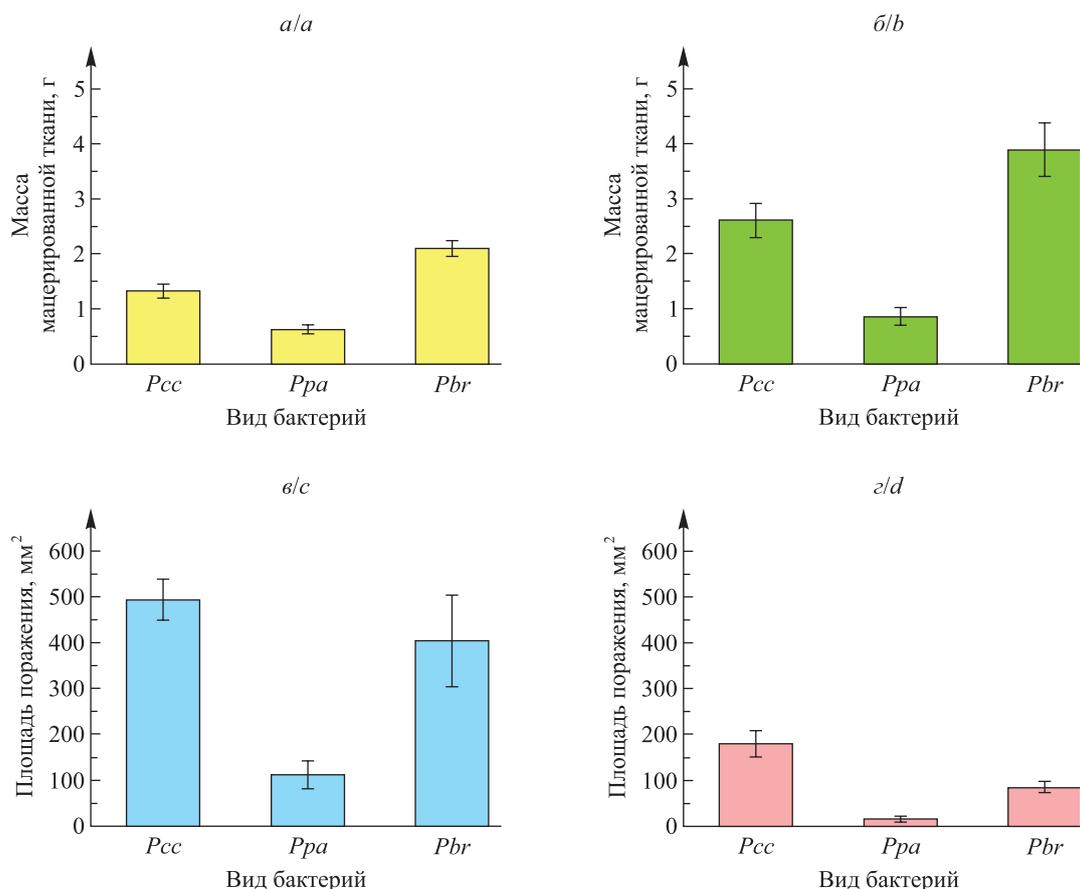


Рис. 2. Степень поражения растений бактериями *P. carotovorum* (*Pcc*), *P. parmentieri* (*Ppa*) и *P. brasiliense* (*Pbr*):
 а – клубни картофеля; б – корнеплоды моркови; в – листья пекинской капусты; г – чешуи лука.
 Для картофеля и моркови определяли массу мацерированной ткани, для пекинской капусты и лука измеряли площадь зоны поражения, так как мацерированная ткань не размягчалась, как при заражении картофеля и моркови. Данные, полученные для каждого штамма одного вида, суммировали и делили на число штаммов

Fig. 2. The degree of plant damage by bacteria *P. carotovorum* (*Pcc*), *P. parmentieri* (*Ppa*) and *P. brasiliense* (*Pbr*):
 а – potato tubers; б – carrot root crop slices; в – Chinese cabbage leaves; д – onion scales.
 For potato and carrot, the mass of macerated tissue was weighed, for Chinese cabbage and onion, the area of the affected zone was measured, since the macerated tissue did not soften, as when potato and carrot were infected.
 Data obtained for each strain of the same species were summarised for all strains and divided by the number of strains

Наименьшая пектатлиазная активность отмечалась в образцах растений, зараженных штаммами бактерий *P. parmentieri*, наибольшая – в образцах растений, зараженных штаммами бактерий *P. carotovorum*. Эти данные также свидетельствуют о том, что *P. parmentieri* является менее вирулентным видом, чем *P. carotovorum* и *P. brasiliense*.

Самые низкие значения пектатлиазной активности регистрировались при заражении пектобактериями лука, что коррелирует с площадью поражения тканей луковички и эффективностью заражения лука. Полученные результаты свидетельствуют о высокой устойчивости лука к заражению пектобактериями, это может быть связано с содержанием в его тканях соединений серы, обладающих сильными антибактериальными свойствами [16].

Выполненные исследования показывают высокую вирулентность распространенных в республике штаммов видов *P. carotovorum* и *P. brasiliense*. Они эффективно заражали картофель, морковь, пекинскую капусту, демонстрируя высокую мацерированную и пектатлиазную активность. Штаммы вида *P. parmentieri* по изученным характеристикам оказались менее вирулентными. Исследования, проведенные в Швейцарии, также выявили более низкую вирулентность местных штаммов вида *P. parmentieri* в сравнении с вирулентностью бактерий вида *P. carotovorum* и рода *Dickeya*, но более широкое их распространение [17]. Бактерии *P. parmentieri* и *P. brasiliense* впервые обнаружены в Беларуси при бактериозах

растений. Со времени открытия вида *P. brasiliense* как возбудителя черной ножки картофеля в Бразилии в 2004 г. патоген широко распространился по всему миру: он обнаружен в странах Азии (Китай, Япония), Африки (ЮАР, Кения, Алжир, Марокко), Европы (Нидерланды, Швейцария, Россия) [17–25]. Отмечается, что бактерии *P. brasiliense* отличаются высокой вирулентностью и, кроме картофеля, поражают другие овощные культуры. Вид *P. parmentieri* был установлен в 2016 г. Ревизия коллекционных штаммов пектобактерий выявила среди них штаммы *P. parmentieri*, выделенные ранее и идентифицированные как *P. carotovorum* [26]. В 2019 г. сообщалось о первом обнаружении в России на территории Московской области вида *P. parmentieri* в качестве возбудителя черной ножки картофеля [27]. Бактерии *P. parmentieri* широко распространены в Польше, где их изолировали еще в 1996 г., но идентифицировали как *P. carotovorum* [10].

Заключение

Выделенные из растений на территории Беларуси фитопатогенные бактерии *P. carotovorum*, *P. parmentieri* и *P. brasiliense* различались по способности поражать растения картофеля, моркови, лука и пекинской капусты при искусственном заражении. Штаммы видов *P. carotovorum* и *P. brasiliense* оказались высоковирулентными, а штаммы вида *P. parmentieri* характеризовались слабой вирулентностью, что проявлялось в низкой эффективности заражения растений лука, моркови, пекинской капусты и в меньших, чем у штаммов других исследованных видов бактерий, показателях мацерировочной и пектатлиазной активности. В то же время бактерии *P. parmentieri* эффективно заражали картофель и мацерировали ткани его клубней, что может свидетельствовать о специализации патогена к этой культуре. Из растений наиболее устойчивым к инфекции пектобактериями оказался лук: только отдельные штаммы пектобактерий (в основном *P. carotovorum* и *P. brasiliense*) вызывали бактериоз. Новый для Беларуси фитопатоген *P. brasiliense* успешно заражал клубни картофеля, морковь, пекинскую капусту и быстро мацерировал пораженные ткани. Получены данные о том, что *P. brasiliense* может поражать 19 видов растений из 10 семейств (однодольных и двудольных), но чаще всего патоген изолируют из растений семейства пасленовых [15]. Учитывая способность поражать широкий круг сельскохозяйственных культур и высокую вирулентность *P. brasiliense*, можно прогнозировать потенциальную опасность нового фитопатогена для посадок картофеля, томатов и перца в Беларуси.

Библиографические ссылки

1. Dye DW. A taxonomic study of the genus *Erwinia*. I. The *amylovora* group. *New Zealand Journal of Science*. 1968;11(4):590–607.
2. Adeolu M, Alnajjar S, Naushad S, Gupta RS. Genome-based phylogeny and taxonomy of the «Enterobacteriales»: proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganeliaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2016;66(12):5575–5599. DOI: 10.1099/ijsem.0.001485.
3. Mansfield J, Genin S, Magori S, Citovsky V, Sriariyanum M, Ronald P, et al. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*. 2012;13(6):614–629. DOI: 10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x.
4. Pérombelon MCM, Kelman A. Ecology of the soft rot erwinias. *Annual Review of Phytopathology*. 1980;18:361–387. DOI: 10.1146/annurev.py.18.090180.002045.
5. Toth IK, van der Wolf JM, Saddler G, Lojkowska E, Hélias V, Pirhonen M, et al. *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology*. 2011;60(3):385–399. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2011.02427.x.
6. Cappaert MR, Powelson ML, Franc GD, Harrison MD. Irrigation water as a source of inoculum of soft rot erwinias for aerial stem rot of potatoes. *Phytopathology*. 1988;78(12):1668–1672. DOI: 10.1094/Phyto-78-1668.
7. Rossmann S, Dees MW, Perminow J, Meadow R, Brurberg MB. Soft rot Enterobacteriaceae are carried by a large range of insect species in potato fields. *Applied and Environmental Microbiology*. 2018;84(12):e00281-18. DOI: 10.1128/AEM.00281-18.
8. Pérombelon MCM. Potato diseases caused by soft rot erwinias: an overview of pathogenesis. *Plant Pathology*. 2002;51(1):1–12. DOI: 10.1046/j.0032-0862.2001.Shorttitle.doc.x.
9. Hugouvieux-Cotte-Pattat N, Condemine G, Nasser W, Reverchon S. Regulation of pectinolysis in *Erwinia chrysanthemi*. *Annual Review of Microbiology*. 1996;50:213–257. DOI: 10.1146/annurev.micro.50.1.213.
10. Motyka-Pomagruk A, Zoledowska S, Sledz W, Lojkowska E. The occurrence of bacteria from different species of Pectobacteriaceae on seed potato plantations in Poland. *European Journal of Plant Pathology*. 2021;159(2):309–325. DOI: 10.1007/s10658-020-02163-x.
11. Евтушенко АН, Фомичев ЮК. Пектатлиазная активность бактерий рода *Erwinia*. *Вестник БГУ. Серия 2, Химия. Биология. География*. 1978;2:25–28.
12. Комар ЕИ, Шавель МИ, Песнякевич АГ. Идентификация грамотрицательных пектолитических фитопатогенных бактерий, вызывающих заболевания картофеля в Беларуси. *Вестник БГУ. Серия 2, Химия. Биология. География*. 2014;2:54–60.
13. Шао Чэньюе, Горовик ЮН, Сидорова СГ, Евтушенко АН. Идентификация пектолитических видов бактерий, выделенных при бактериозах растений в Республике Беларусь. *Экспериментальная биология и биотехнология*. 2022;3:64–72. DOI: 10.33581/2957-5060-2022-3-64-72.
14. Евтушенко АН, Шевчик ВЕ, Попова ЛБ, Фомичев ЮК. Очистка и свойства двух внеклеточных пектатлиаз штамма *Erwinia chrysanthemi* ENA49. *Прикладная биохимия и микробиология*. 1986;22(2):187–192.
15. Oulghazi S, Sarfraz S, Zaczek-Moczydłowska MA, Khayi S, Ed-Dra A, Lekbach Y, et al. *Pectobacterium brasiliense*: genomics, host range and disease management. *Microorganisms*. 2021;9(1):106. DOI: 10.3390/microorganisms9010106.

16. Block E. The chemistry of garlic and onions. *Scientific American*. 1985;252(3):114–119.
17. de Werra P, Debonneville C, Kellenberger I, Dupuis B. Pathogenicity and relative abundance of *Dickeya* and *Pectobacterium* species in Switzerland: an epidemiological dichotomy. *Microorganisms*. 2021;9(11):2270. DOI: 10.3390/microorganisms9112270.
18. Meng Xianglong, Chai Ali, Shi Yanxia, Xie Xuewen, Ma Zhanhong, Li Baoju. Emergence of bacterial soft rot in cucumber caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in China. *Plant Disease*. 2017;101(2):279–287. DOI: 10.1094/PDIS-05-16-0763-RE.
19. van der Merwe JJ, Coutinho TA, Korsten L, van der Waals JE. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* causing blackleg on potatoes in South Africa. *European Journal of Plant Pathology*. 2010;126(2):175–185. DOI: 10.1007/s10658-009-9531-2.
20. Oulghazi S, Moumni M, Khayi S, Robic K, Sarfraz S, Lopez-Roques C, et al. Diversity of Pectobacteriaceae species in potato growing regions in Northern Morocco. *Microorganisms*. 2020;8(6):895. DOI: 10.3390/microorganisms8060895.
21. Naas H, Sebahia M, Orfei B, Rezzonico F, Buonauro R, Moretti C. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* as causal agents of potato soft rot in Algeria. *European Journal of Plant Pathology*. 2018;151(4):1027–1034. DOI: 10.1007/s10658-018-1438-3.
22. Onkendi EM, Moleleki LN. Characterization of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *brasiliense* from diseased potatoes in Kenya. *European Journal of Plant Pathology*. 2014;139(3):557–566. DOI: 10.1007/s10658-014-0411-z.
23. Leite LN, de Haan EG, Krijger M, Kastelein P, van der Zouwen PS, van den Bovenkamp GW, et al. First report of potato blackleg caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* in the Netherlands. *New Disease Reports*. 2014;29(1):24. DOI: 10.5197/j.2044-0588.2014.029.024.
24. de Werra P, Bussereau F, Keiser A, Ziegler D. First report of potato blackleg caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in Switzerland. *Plant Disease*. 2015;99(4):551. DOI: 10.1094/PDIS-07-14-0742-PDN.
25. Voronina MV, Kabanova AP, Shneider MM, Korzhenkov AA, Toschakov SV, Miroshnikov KK, et al. First report of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* causing blackleg and stem rot disease of potato in Russia. *Plant Disease*. 2019;103(2):364. DOI: 10.1094/PDIS-03-18-0456-PDN.
26. Khayi S, Cigna J, Chong TM, Quêtu-Laurent A, Chan K-G, Hélias V, et al. Transfer of the potato plant isolates of *Pectobacterium wasabiae* to *Pectobacterium parmentieri* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2016;66(12):5379–5383. DOI: 10.1099/ijsem.0.001524.
27. Ngoc Ha VT, Voronina MV, Kabanova AP, Shneider MM, Korzhenkov AA, Toschakov SV, et al. First report of *Pectobacterium parmentieri* causing stem rot disease of potato in Russia. *Plant Disease*. 2019;103(1):144. DOI: 10.1094/PDIS-11-17-1829-PDN.

References

1. Dye DW. A taxonomic study of the genus *Erwinia*. I. The *amylovora* group. *New Zealand Journal of Science*. 1968;11(4):590–607.
2. Adeolu M, Alnajjar S, Naushad S, Gupta RS. Genome-based phylogeny and taxonomy of the «Enterobacterales»: proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganellaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2016;66(12):5575–5599. DOI: 10.1099/ijsem.0.001485.
3. Mansfield J, Genin S, Magori S, Citovsky V, Sriariyanum M, Ronald P, et al. Top 10 plant pathogenic bacteria in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*. 2012;13(6):614–629. DOI: 10.1111/j.1364-3703.2012.00804.x.
4. Pérombelon MCM, Kelman A. Ecology of the soft rot erwinias. *Annual Review of Phytopathology*. 1980;18:361–387. DOI: 10.1146/annurev.py.18.090180.002045.
5. Toth IK, van der Wolf JM, Saddler G, Lojkowska E, Hélias V, Pirhonen M, et al. *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathology*. 2011;60(3):385–399. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2011.02427.x.
6. Cappaert MR, Powelson ML, Franc GD, Harrison MD. Irrigation water as a source of inoculum of soft rot erwinias for aerial stem rot of potatoes. *Phytopathology*. 1988;78(12):1668–1672. DOI: 10.1094/Phyto-78-1668.
7. Rossmann S, Dees MW, Perminow J, Meadow R, Brurberg MB. Soft rot Enterobacteriaceae are carried by a large range of insect species in potato fields. *Applied and Environmental Microbiology*. 2018;84(12):e00281-18. DOI: 10.1128/AEM.00281-18.
8. Pérombelon MCM. Potato diseases caused by soft rot erwinias: an overview of pathogenesis. *Plant Pathology*. 2002;51(1):1–12. DOI: 10.1046/j.0032-0862.2001.Shorttitle.doc.x.
9. Hugouvieux-Cotte-Pattat N, Condemine G, Nasser W, Reverchon S. Regulation of pectinolysis in *Erwinia chrysanthemi*. *Annual Review of Microbiology*. 1996;50:213–257. DOI: 10.1146/annurev.micro.50.1.213.
10. Motyka-Pomagruk A, Zoledowska S, Sledz W, Lojkowska E. The occurrence of bacteria from different species of Pectobacteriaceae on seed potato plantations in Poland. *European Journal of Plant Pathology*. 2021;159(2):309–325. DOI: 10.1007/s10658-020-02163-x.
11. Evtushenkov AN, Fomichev YuK. [Pectate lyase activity of the bacteria of the genus *Erwinia*]. *Vestnik BGU. Seriya 2, Khimiya. Biologiya. Geografiya*. 1978;2:25–28. Russian.
12. Komar EI, Shavel' MI, Pesnyakevich AG. [Identification of the gramnegative pectolytic phytopathogenic bacteria provoking potato diseases in Belarus]. *Vestnik BGU. Seriya 2, Khimiya. Biologiya. Geografiya*. 2014;2:54–60. Russian.
13. Shao Chengyue, Gorovik YuN, Sidorova SG, Evtushenkov AN. Identification of pectolytic bacterial species isolated during plant bacteriosis in the Republic of Belarus. *Experimental Biology and Biotechnology*. 2022;3:64–72. Russian. DOI: 10.33581/2957-5060-2022-3-64-72.
14. Evtushenkov AN, Shevchik VE, Popova LB, Fomichev YuK. [Purification and properties of two extracellular pectate lyases of the strain *Erwinia chrysanthemi* ENA49]. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 1986;22(2):187–192. Russian.
15. Oulghazi S, Sarfraz S, Zaczek-Moczydłowska MA, Khayi S, Ed-Dra A, Lekbach Y, et al. *Pectobacterium brasiliense*: genomics, host range and disease management. *Microorganisms*. 2021;9(1):106. DOI: 10.3390/microorganisms9010106.
16. Block E. The chemistry of garlic and onions. *Scientific American*. 1985;252(3):114–119.
17. de Werra P, Debonneville C, Kellenberger I, Dupuis B. Pathogenicity and relative abundance of *Dickeya* and *Pectobacterium* species in Switzerland: an epidemiological dichotomy. *Microorganisms*. 2021;9(11):2270. DOI: 10.3390/microorganisms9112270.
18. Meng Xianglong, Chai Ali, Shi Yanxia, Xie Xuewen, Ma Zhanhong, Li Baoju. Emergence of bacterial soft rot in cucumber caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in China. *Plant Disease*. 2017;101(2):279–287. DOI: 10.1094/PDIS-05-16-0763-RE.

19. van der Merwe JJ, Coutinho TA, Korsten L, van der Waals JE. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* causing blackleg on potatoes in South Africa. *European Journal of Plant Pathology*. 2010;126(2):175–185. DOI: 10.1007/s10658-009-9531-2.
20. Oulghazi S, Moumni M, Khayi S, Robic K, Sarfraz S, Lopez-Roques C, et al. Diversity of Pectobacteriaceae species in potato growing regions in Northern Morocco. *Microorganisms*. 2020;8(6):895. DOI: 10.3390/microorganisms8060895.
21. Naas H, Sebahia M, Orfei B, Rezzonico F, Buonauro R, Moretti C. *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* and *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* as causal agents of potato soft rot in Algeria. *European Journal of Plant Pathology*. 2018;151(4):1027–1034. DOI: 10.1007/s10658-018-1438-3.
22. Onkendi EM, Moleleki LN. Characterization of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* and *brasiliense* from diseased potatoes in Kenya. *European Journal of Plant Pathology*. 2014;139(3):557–566. DOI: 10.1007/s10658-014-0411-z.
23. Leite LN, de Haan EG, Krijger M, Kastelein P, van der Zouwen PS, van den Bovenkamp GW, et al. First report of potato blackleg caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliensis* in the Netherlands. *New Disease Reports*. 2014;29(1):24. DOI: 10.5197/j.2044-0588.2014.029.024.
24. de Werra P, Bussereau F, Keiser A, Ziegler D. First report of potato blackleg caused by *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* in Switzerland. *Plant Disease*. 2015;99(4):551. DOI: 10.1094/PDIS-07-14-0742-PDN.
25. Voronina MV, Kabanova AP, Shneider MM, Korzhenkov AA, Toschakov SV, Miroshnikov KK, et al. First report of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *brasiliense* causing blackleg and stem rot disease of potato in Russia. *Plant Disease*. 2019;103(2):364. DOI: 10.1094/PDIS-03-18-0456-PDN.
26. Khayi S, Cigna J, Chong TM, Quêtu-Laurent A, Chan K-G, Hélias V, et al. Transfer of the potato plant isolates of *Pectobacterium wasabiae* to *Pectobacterium parmentieri* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2016;66(12):5379–5383. DOI: 10.1099/ijsem.0.001524.
27. Ngoc Ha VT, Voronina MV, Kabanova AP, Shneider MM, Korzhenkov AA, Toschakov SV, et al. First report of *Pectobacterium parmentieri* causing stem rot disease of potato in Russia. *Plant Disease*. 2019;103(1):144. DOI: 10.1094/PDIS-11-17-1829-PDN.

Получена 06.03.2023 / исправлена 05.06.2023 / принята 05.06.2023.
Received 06.03.2023 / revised 05.06.2023 / accepted 05.06.2023.