

## *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* (Fang et al.) Swings et al. Бактериальная полосатость риса

### Распространение:

**Регион ЕОКЗР:** отсутствует.

**Азия:** Бангладеш, Вьетнам, Индия, Индонезия, Камбоджа, Китай, Лаос, Малайзия, Мьянма, Непал, Пакистан, Таиланд, Филиппины.

**Африка:** Буркина-Фасо, Бурунди, Мадагаскар, Мали, Нигерия, Сенегал, Уганда.

**Океания:** Австралия (северные территории).

### Поражаемые растения:

Основным растением-хозяином является рис *Oryza sativa*. Бактерии поражают также ряд злаковых сорняков и незначительное число культивируемых злаков Poaceae: *Leersia* spp. (*Leersia hexandra*, *L. oryzoides*), *Leptochloa micronata*, *Paspalum scrobiculatum*, *Zizania aquatica*, *Z. latifolia*, *Z. palustris* и *Zoysia japonica*.

### Симптомы поражений:

Заболевание вызывает появление на листьях между жилками узких темно-зеленых водянистых штрихов различной длины, которые с развитием болезни удлиняются, распространяясь по всей длине листа параллельно жилкам. Постепенно повреждения расширяются, становятся от оранжево-желтых до коричневых, в зависимости от сорта, и могут сливаться. На поверхности листьев может выступить экссудат.

На последней стадии развития бактериальные болезни риса трудно различить между собой, но главным отличительным признаком болезней является внешний вид повреждений. При бактериальном ожоге края листьев бывают волнистыми, в отличие от прямых краев при бактериальной полосатости риса. Кроме того, возбудитель бактериального ожога риса поражает в основном сосудистую систему и листовые влагалища, а бактериальная полосатость риса – паренхимные ткани листа.

### Пути распространения:

Главным и единственным источником заражения при переносе в свободные регионы является зараженный семенной материал. На незначительные расстояния возможен перенос возбудителя зараженным растительным материалом, самосевом риса, зараженными соломой и половой. Кроме того, распространение происходит ветром, дождем, но преимущественно водой для орошения и при наводнениях.

### Методы выявления и идентификации:

Выделять бактерии рода *Xanthomonas* из растений предпочтительно из образцов с симптомами на среды PSA, NBY, GF agar (Agarwal et al., 1989; Sakthivel et al., 2001). Бактерии также могут быть выделены на питательном агаре (NA), но рост колоний будет очень медленным; на полуселективной питательной среде, например модифицированной среде XOS (mXOS) (Di et al., 1991; Gnanamanickam et al., 1994). Колонии *X. oryzae* pv. *oryzicola* также изолируют на модифицированной агаровой среде Wakimoto (Mew & Mistra, 1994), разработанной для выделения *X. oryzae* pv. *oryzae*, но с отсутствием сульфата железа.

Пробы из семян (400 шт) измельчают до муки грубого помола, затем суспензируют в 200 мл стерильного хлорида натрия (0,85%) (стерильный физиологический раствор) (Agarwal et al., 1989; Mortensen et al., 1994). Проводят посев суспензии на чашки с питательным агаром и инкубируют при температуре  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  в течение 3-5 дней. Колонии на среде GF очень маленькие, желтые и блестящие, а колонии на среде mXOS имеют характерный розовый цвет, блестящие и слизистые (Di et al., 1991).

Для подтверждения наличия возбудителя проводят тест на патогенность на рисе. Результаты биохимических тестов и тестов на

патогенность проводят для разделения патоваров *Xanthomonas oryzae*.

Два патовара *X. oryzae* отличаются друг от друга симптомами инфицирования (Ou, 1985), фенотипическими признаками (Vera Cruz et al., 1984; Vauterin et al., 1995), по разделению белков в полиакриламидном геле на электрофорезе (Mew, Vera Cruz et al., 1979; Kersters et al., 1989), по серологии (Benedict et al., 1989) и фаготипированию (Swings и Civerolo, 1993).

В качестве методов диагностики рекомендуется использовать анализы на основе классической ПЦР с праймерами, специфичными для рода *Xanthomonas*, видоспецифичными праймерами, а также ПЦР «в реальном времени» для разделения двух близкородственных видов *X. oryzae* pv. *oryzae* и *X. oryzae* pv. *oryzicola* с видоспецифичными праймерами и зондом.

Классическую ПЦР проводят с парой праймеров **Xnth 804F/1405R** – специфичной для межгенного участка Xcc0007-tonB (Tsygankova et al., 2004) всех бактерий рода *Xanthomonas* (размер продукта 623 п.о.).

**Xnth 804 F** 5-CGC (M) G(S) (S) GTGATGGACAA GC-3

**XnthR 1405** 5-CCSTGGTTCCCGGCATCRTAG TCA-3

Для специфической идентификации *X. oryzae* pv. *oryzae* и *X. oryzae* pv. *oryzicola* используют праймеры **ТХТ/ТХТ-4R** (Sakthivel et al., 2001), рекомендованные протоколом ЕОКЗР (EPPO, 2007).

**ТХТ** 5-GTCAAGCCAACTGTGTA-3,  
**ТХТ4R** 5-CGTTCCGGCAGAGTTG-3

Для постановки ПЦР «в реальном времени» рекомендуется использовать праймеры **X.o.F/ X.o.R** и зонд **X.or.P** (ЗАО Синтол, Москва), специфичные для *Xanthomonas oryzae* (Егорова и др., 2014) и разработанные в ФГБУ «ВНИИКР».

**XOF** 5-ATGCCGATCACCATGCCGAT-3

**XOR** 5-TGGCCTTGTTCGTACGAGCTC-3

**X.or.-P** R6G-CAC CGA GAA CGC GCC TGC C-RTQ2

Для разделения двух близкородственных видов *X. oryzae* pv. *oryzae* и *X. oryzae* pv. *oryzicola* используют ПЦР «в реальном времени» с использованием TaqMan-зонда, разработанного Wen-Jun Zhao (Zhao et al., 2007) (Vera Cruz et al., 1984; Lelliott и Stead, 1987; Mew и Mistra, 1994; Schaad et al., 2001). Праймеры **PF/PR** и зонд, содержащий флуоресцентную метку 6-карбоксихлорофлуоресцеина (carboxyfluorescein) (FAM) на 5' конце и гаситель флуоресценции tetramethyl carboxyrhodamine (TAMRA) на 3' конце, были разработаны для определения последовательности гена рецептора сидерофора (siderophore receptor gene cds), специфичного только для *X. oryzae* pv. *oryzae*, но не для *X. oryzae* pv. *oryzicola*.

**PF:** 5'-GAAT ATCAGCATCGGCAACAG-3

**PR:** 5'-TACCGGAGCTGCGCGTT-3'

**The probe** 5'-CATCGCCTGCTCGGCTACCAGC-3'





Симптомы бактериальной полосатости риса

*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*:

А – пораженные бактериозом посева риса; Б, В, Г – поражения бактериоза на листовых пластинках (Т.В. Мев – IRRI, Los Baños (PH))

**Ссылки на основные источники информации по выявлению и идентификации:**

1. Егорова М.С., Игнатов А.Н., Мазурин Е.С. Усовершенствование методов диагностики возбудителя бактериального ожога риса на основе ПЦР // Вестник РУДН, серия Агронимия и животноводство. – 2014. – № 2. – С. 22-28.

2. Agarwal P.C., Mortensen C.N. & Mathur S.B. Seed-borne diseases and seed health testing of rice // Technical Bulletin Phytopathological Papers No. 30. – Danish Government Institute of Seed Pathology for Developing Countries & CAB International Mycological Institute (DK/GB). – 1989. – V. 3.

3. Benedict A.A., Alvarez A.M., Berestecky J., Imanaka W., Mizumoto C.Y., Pollard L.W., Mew T.W., and Gonzalez C.F. Pathovar-specific monoclonal-antibodies for *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* and for *Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola* // Phytopathology. – 1989. – V. 79. – P. 322-328.

4. Di M., Ye H.Z., Schaad N.W. & Roth D.A. Selective recovery of *Xanthomonas* spp. from rice seeds // Phytopathology. – 1991. – V. 81 – P. 1358-1363.

5. Gnanamanickam S.S., Shigaki T., Medalla E.S., Mew T.W. & Alvarez A.M. Problems in detection of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in rice seed and potential for improvement using monoclonal

antibodies // Plant Disease. – 1994. – V. 78. – P. 173-178.

6. Kersters K., Pot B., Hoste B., Gillis M., & De Ley J. Protein electrophoresis and DNA: DNA hybridizations of xanthomonads from grasses and cereals // Bulletin OEPP/EPPO. – 1989. – V. 19. – P. 51-55.

7. Lelliot R.A., Stead D.E. Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants. – Oxford etc.: Blackwell Sci. Pul. 1987. – 216 pp.

8. Mew T.W. & Mishra J.K. A Manual of Rice Seed Health Testing // IRRI. – Manila (PH). – 1994.

9. Mortensen C.N., Manandhar H.K., Cahyaniati & Haryanti S.E. Pathogenic bacteria associated with rice seed samples from Indonesia and Nepal // Plant Pathogenic Bacteria. – Versailles (France), 8th International Conference, June 9-12. – 1994. – V. 66.

10. OEPP/EPPO. Diagnostics, *Xanthomonas oryzae* // Bulletin OEPP/EPPO Bulletin. – 2007. – V. 37. – P. 543-553.

11. Ou S.H. Rice diseases // Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey. – England – 1985. – V. 2.

12. Reddy P.R. Kresk phase of bacterial blight of rice. *Oryza*, 1984, 21, 179-187.

13. Sakthivel N., Mortensen C.N. & Mathur S.B. Detection of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in artificially inoculated and naturally infected rice seeds and plants

by molecular techniques // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2001. – V. 56. – P. 435-441.

14. Schaad N.W., Jones J.B. and Lacy G. *Xanthomonas* // Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. APS Press, St. Paul. – MN. – 2001. – V. 3. – P. 494-495.

15. Swings J.G. & Civerolo E.L. *Xanthomonas* // First edn: Chapman & Hall. – London. – 1993.

16. Tsygankova S.V., A.N. Ignatov, E.S. Boulygina, B.B. Kuznetsov, E.V. Korotkov. Genetic intraspecies relationships in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* revealed by novel rep-PCR primers // European J. Plant Pathol. – 2004. V. 110. № 8. P. 845-853.

17. Vauterin L., Hoste B., Kersters K., Swings J. Reclassification of *Xanthomonas* – International Journal of systematic bacteriology – 1995, V. 45. P. 472-479.

18. Vera Cruz C.M., Gossele F., Kersters K., Segers P., Van Den Mooter M., Swings J. et al. Differentiation between *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*, *Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola* and the bacterial ‘brown blotch’ pathogen on rice by numerical analysis of phenotypic features and protein gel electrophoregrams // Journal of General Microbiology. – 1984. – V. 130. – P. 2983-2999.

19. Zhao W.J., Zhu S.F., Liao X.L., Tan T.W. Detection of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in seeds using a specific TaqMan probe // Molecular Biotechnology. – 2007. – V. 35. – P. 119-127.