

Xylophilus ampelinus (Panagopoulos) Willems et al. Бактериальное увядание винограда

Распространение:

Греция, Италия, Молдова, Словения, Франция, ЮАР.

Поражаемые растения:

Бактерия поражает исключительно виноград (*Vitis vinifera*, а также *Vitis* spp., используемые в качестве подвоя).

Симптомы (поражений, повреждений):

Симптомы бактериального увядания винограда могут развиваться на всех наземных частях растения. Часто на

растении с системной инфекцией часть побегов не формирует симптомы, но возбудитель может находиться в них в латентной форме.

На побегах симптомы можно наблюдать с ранней весны до июня. В случае благоприятных условий наблюдается увядание и последующее усыхание почек и молодых отрастающих побегов, вследствие их инфицирования бактериями, выходящими из срезов лозы в начале активного сокодвижения («плач лозы») (рис. 1, 2).



а



б

Рис. 1. Молодые побеги (а) и почки (б), погибшие весной в результате внешней инфекции (фото Н.В. Дреновой)

При системной инфекции сначала наблюдается поражение основания молодого побега. В случае более позднего формирования симптомов вследствие неблагоприятных условий, обычно наблюдается поражение двух нижних междоузлий (от 12 до 30 см),

откуда инфекция медленно продвигается выше (рис. 2). Вдоль пораженных побегов появляются палево-желтовато-зеленоватые зоны, переходящие в красно-коричневые полосы. Они развиваются в продольные трещины вследствие избыточного разрастания (гиперплазии)

камбия, в результате чего возникают раковые образования. В основном трещины образуются в нижних частях побегов, постепенно распространяясь к вершине. Трещины могут достигать

сердцевины, ткани становятся бурыми, наблюдается увядание, а затем и усыхание побега. В местах развития язв лоза легко обламывается.



а



б

Рис. 2. Поражение основания побегов при системной инфекции (фото Н.В. Дреновой)



а



б

Рис. 3. Продольные трещины на побегах винограда (фото: www.eppo.org)

Заболевание может проявляться в аномалиях пробуждения почек. На пораженных побегах они либо не прорастают, либо напротив, образуют многочисленные слабые побеги, которые вскоре могут отмирать (EPPO/CABI (1997)).

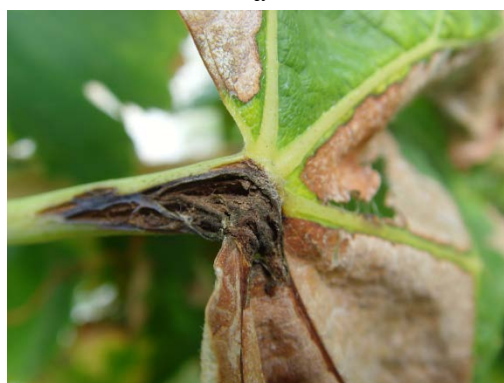
Древесина на продольном срезе побегов с симптомами часто буреет. У некоторых сортов наблюдается позднее и неравномерное одревеснение инфицированной лозы. Общий вид пораженных растений может измениться,

они выглядят более раскидистыми, чем здоровые.

В листья инфекция может проникать через черешок. В этом случае можно часто наблюдать образование язв с одной стороны черешков, приводящих к характерному одностороннему некрозу листьев (рис. 4). Также на пораженных листьях может наблюдаться образование некротических секторов, окруженных обесцвеченной зоной.



а



б

Рис. 4. Поражения листьев (фото: www.eppo.int; Н.В. Дреновой)

Пораженные листья часто отмирают полностью. В случае проникновения инфекции в листья извне через устьица или уколы насекомых (например, с зараженным соком) на них могут наблюдаться локальные красновато-коричневые угловатые некротические пятна, окруженные обесцвеченной зоной. В дальнейшем центральная засохшая часть пятна может

выпадать, образуя симптом, называемый «дырчатостью» («shot hole»).

Когда заражение происходит через гидатоды, на кончиках листьев развиваются красновато-коричневые некрозы. При высокой влажности на инфицированных листьях можно увидеть светло-желтый бактериальный экссудат.

На ножках гроздей развиваются язвы, аналогичные таковым для черешков листа (рис. 5).



а

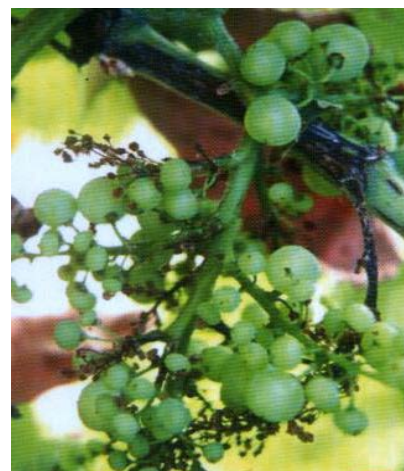


б

Рис. 5. Язвы на ножке грозди (фото Н.В. Дреновой)



а



б

Рис. 6. Некроз соцветий, отдельных цветков, изреженность грозди (фото Н.В. Дреновой; www.vignevin-sudouest.com/publicationsfiches-pratiquesnecrose-bacterienne.php)

Отдельные цветки или целые соцветия чернеют и отмирают. В случае меньшей интенсивности инфекции возможно формирование ягод. Однако они либо увядают в процессе созревания, либо вызревают, но сформировавшаяся гроздь бывает изрежена (рис. 6), урожай и качество ягод на таких растениях значительно снижается.

Инфекция может проникать также и в корневую систему как корнесобственных, так и привитых растений, что приводит к задержке роста.

Описанные симптомы, особенно для молодых побегов и листьев, характерны для бактериального увядания винограда, но не специфичны. Они сходны с таковыми для других болезней. Язвы на побегах и листовая пятнистость,

принимаемые за проявления инфекции *X. ampelinus*, могут быть вызваны сильным поражением грибом *Sphaceloma ampelinum* (без побурения сосудов ксилемы) и *Phomopsis viticola*. Неспособность почек к прорастанию и отмирание ветвей также могут быть вызваны древесными грибами *Togninia minima* (анаморфа: *Phaeoacremonium aleophilum*), *Phaeoconiella clamydospora*, *Fomitiporia mediterranea*, *Eutypa lata*, *Botryosphaeria* spp. или *Verticillium* spp. В этом случае развития язв не наблюдается, либо они отличаются от вышеописанных, но побурение ксилемы присутствует. Симптомы, похожие на язвы, могут быть также вызваны градом.



Рис. 7. Поражение грибом *Sphaceloma ampelinum* (www.agripests.cn)

Пути распространения:

Зараженный посадочный материал является основным источником распространения инфекции на дальние расстояния. На сильно зараженных виноградниках до 50% лозы может быть латентно заражено, представляя большой риск распространения в случае использования материала для размножения. На небольшие расстояния патоген распространяется через орудия и машины при обрезке и обработке растений; от растения к растению с соком и водой, используемой для орошения и борьбы с виноградной филлоксерой (*Viteus vitifoliae* (Fitch)).

Методы выявления и идентификации:

В первую очередь обследуют виноградники и питомники винограда научно-исследовательских учреждений и хозяйства, в которые поступает импортный посадочный материал. Обследование проводят не менее двух раз в течение вегетационного периода: конец мая – июнь (по цветкам и молодым побегам) и июль – август (в стадии завязывания виноградных гроздьев). При обследовании питомников винограда, занимающихся выращиванием посадочного и прививочного материала, проводят сплошной визуальный осмотр

растений. При обследовании производственных виноградников осматривают не менее 10% всех растений, проходя по двум диагоналям и четырем сторонам обследуемого участка. Для образца берут различные части растений с симптомами, соцветия, побеги, листья, гроздь с хорошо выраженными признаками заболевания. На одном растении могут быть взяты образцы с нескольких пораженных частей. Для выявления латентной инфекции отбирают преимущественно целые побеги с нижней части растения.

Лабораторную экспертизу образцов проводят согласно «Методическими рекомендациями по выявлению и идентификации возбудителя бактериального увядания винограда *Xylophilus ampelinus* (Panagopoulos) Willems et al.» (2014), подготовленными на основе диагностического стандарта ЕОКЗР РМ 7/96 (1). Вследствие биологических особенностей возбудителя использование иммуноферментного анализа и выделение чистой культуры на искусственные среды затруднено и возможно преимущественно из образцов с типичными симптомами. Основными методами диагностики являются молекулярные методы, причем используемые реактивы и наборы для выделения ДНК и амплификации имеют решающее значение для эффективности анализа.

1. В настоящее время валидированы следующие методы на основе ПЦР

1.1. ПЦР в режиме «реального времени» с праймерами и зондом по Dreo et al. (2007)

Xamp 14F (5'-CCCGATGATAAATACCGAAAАСТС-3')

Xamp 104R (5'-TGTCCTTCTGGTTGTTTTGGTTTTAAT-3')

Xamp 14F/104 (5'-FAM-AGCGCCTGACGCAT-BHQ)

При использовании набора для выделения ДНК «Проба ГС» (ОАО «Агродиагностика» и набора для

амплификации «qPCR Mix-HS» (ЗАО «Евроген»). Внутренний контроль амплификации (ВК) проводится в отдельной реакции. Чувствительность метода 10^4 КОЕ/мл. Отмечена высокая селективность в отношении виноградных экстрактов.

При использовании набора для выделения ДНК «ГМО-Сорб-Б» (ЗАО «Синтол») и набора для амплификации «Базовый комплект № 2» (с ВК) для ПЦР «в реальном времени» (ОАО «Агродиагностика»). Чувствительность метода 10^3 КОЕ/мл. Метод отличается высокой воспроизводимостью.

1.2. Классическая ПЦР с праймерами по Manceau et al. (2005)

Xa TS1 5'-TGC GTA GTT CAA CAC CAA AGT-3'

Xa TS2 5'-TAT GAC CCT CTT TCC ACC AGC-3'

При использовании набора для выделения ДНК «Проба ГС» (ОАО «Агродиагностика» и набора для амплификации «5x Screen Mix-HS» (ЗАО «Евроген»). Внутренний контроль амплификации (ВК) проводится в отдельной реакции. Чувствительность метода 10^3 КОЕ/мл. Отмечена высокая селективность в отношении виноградных экстрактов.

При использовании набора для выделения ДНК «ГМО-Сорб-Б» (ЗАО «Синтол») и набора для амплификации «5x Screen Mix-HS» (ЗАО «Евроген») с увеличенным количеством ДНК. Внутренний контроль амплификации (ВК) проводится в отдельной реакции. Чувствительность метода 10^3 КОЕ/мл.

2. Продукты амплификации могут быть использованы для секвенирования ДНК

3. Изоляция на питательные среды (в случае положительных результатов не менее двух анализов на основе ПЦР)

Рекомендуется проводить изоляцию на пептонно-дрожжевой глюкозный агар (YPGA) согласно «Методическим рекомендациям» (2014).

4. Методы идентификации (в соответствии с «Методическими

рекомендациями» (2014) и Стандартом ЕОКЗР РМ 7/96 (1))

4.1. Серологические методы
(иммунофлуоресцентный и иммуноферментный анализы)

4.2. Биохимические тесты

Для установления диагноза необходимо использовать не менее двух валидированных методов.

Ссылки на основные источники информации по выявлению и идентификации:

1. Дренова Н.В. (2014) Методические рекомендации по выявлению и идентификации возбудителя бактериального увядания винограда *Xylophilus ampelinus* (Panagopoulos) Willems et al.

2. Dreo T., Gruden K., Manceau C., Janse J.D. & Ravnikar M. (2007) Development of a real-time PCR-based method for detection of *Xylophilus ampelinus*. Plant Pathology 56, 9-16.

3. EPPO/CABI (1997) *Xylophilus ampelinus*. In: Quarantine Pests for Europe (Eds. Smith I.M., McNamara D.G., Scott P.R. & Holderness M.), 2 nd edn. pp. 1162-1165. CAB International, Wallingford (GB).

4. Manceau C., Grall S., Brin C. & Guillaume`s J. (2005) Bacterial extraction from grapevine and detection of *Xylophilus ampelinus* by a PCR and microwell plate detection system. Bulletin OEPP/ EPPO Bulletin 35, 55-60.

5. OEPP/EPPO. 2009. РМ 7/96 (1): *Xylophilus ampelinus*. Diagnostic protocols for regulated pests. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 39: 403-412.