

4.1.3. АГРОХИМИЯ, АГРОПОЧВОВЕДЕНИЕ, ЗАЩИТА  
И КАРАНТИН РАСТЕНИЙ (БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ)

Научная статья

УДК 579.64: 632.3.01/08: 632.913.1

DOI: 10.53914/issn2071-2243\_2026\_1\_51

EDN: TDSCXP

**Сравнительный анализ условий заражения пшеницы и кукурузы  
возбудителем бактериальной полосатости и ожога листьев злаков  
*Acidovorax avenae* subsp. *avenae* и оценка пригодности  
методов изоляции чистой культуры патогена****Анастасия Андреевна Трошкова<sup>1✉</sup>, Анастасия Богдановна Яремко<sup>2</sup>,  
Александр Николаевич Игнатов<sup>3</sup>, Елена Петровна Кононова<sup>4</sup>,  
Ольга Юрьевна Словарева<sup>5</sup>**<sup>1, 2, 4, 5</sup> Всероссийский центр карантина растений, Быково, Россия<sup>1</sup> Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева,  
Москва, Россия<sup>3, 5</sup> Российский университет дружбы народов, Москва, Россия<sup>1</sup> anades13@yandex.ru✉

**Аннотация.** Возбудитель бактериальной полосатости и ожога листьев злаков *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* (Manns, 1909; Willems et al., 1992) в последние годы характеризуется повышением агрессивности в отношении злаковых культур и расширением своего ареала. Эффективная борьба с этим фитопатогеном требует оптимизации методов выделения возбудителя в чистую культуру и искусственного заражения растений (фитопатологический анализ). Цель данного исследования заключалась в оценке пригодности методов выделения возбудителя из зараженных растений в чистую культуру с помощью различных питательных сред, соответствующей им морфологической характеристике бактериальных колоний *A. avenae* subsp. *avenae* и в оптимизации условий заражения пшеницы и кукурузы возбудителем бактериальной полосатости листьев. Для культивирования патогена испытано 5 питательных сред – ГДМА, МПА, КГА, Кинга В и R2A. Установлено, что среда R2A обеспечивает максимально благоприятные условия для роста бактериальных клеток, с лучшими свойствами для изоляции *A. avenae* subsp. *avenae*. Чистая культура возбудителя легко может быть получена при посеве экстрактов из зараженных растений пшеницы и кукурузы. Колонии *A. avenae* subsp. *avenae* на этой среде хорошо отличимы от колоний сопутствующих бактерий: они блестящие, кремовые, имеют круглую форму, выпуклый профиль, целый край, диаметр 1–5 мм, гладкую поверхность. На кукурузе максимальное проявление типичных симптомов бактериоза в виде увядания и вытянутых некротизированных полос на листьях отмечено только при использовании метода инъекции суспензии в стебель. Выявлена разница в проявлении вирулентности *A. avenae* subsp. *avenae* в отношении растения-хозяина – симптомы бактериоза присутствовали на каждом растении кукурузы с поражением до 100% листовой поверхности, в то время как растения пшеницы были поражены локально и на ограниченном количестве листьев. Разница в проявлении симптомов между использованием суспензии в концентрации  $10^6$  и  $10^8$  КОЕ/мл не отмечена.

**Ключевые слова:** зерновые культуры, морфология бактериальных колоний, молекулярно-генетические методы идентификации, диагностика фитопатогенов, ПЦР, изоляция бактерий, фитосанитарные требования

**Финансирование:** статья подготовлена по результатам исследования, выполненного в рамках Государственного задания ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (ФГБУ «ВНИИКР»), регистрационный номер ЕГИСУ НИОКТР 124022800055-1.

**Для цитирования:** Трошкова А.А., Яремко А.Б., Игнатов А.Н., Кононова Е.П., Словарева О.Ю. Сравнительный анализ условий заражения пшеницы и кукурузы возбудителем бактериальной полосатости и ожога листьев злаков *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* и оценка пригодности методов изоляции чистой культуры патогена // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. 2026. Т. 19, № 1(88). С. 51–65. [https://doi.org/10.53914/issn2071-2243\\_2026\\_1\\_51-65](https://doi.org/10.53914/issn2071-2243_2026_1_51-65).

4.1.3. AGRICULTURAL CHEMISTRY, AGRONOMIC SOIL SCIENCE,  
PROTECTION AND QUARANTINE OF PLANTS (BIOLOGICAL SCIENCES)

Original article

**Comparative analysis of conditions for infection of wheat and corn with bacterial  
leaf stripe, *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*, and assessing the suitability  
of methods for isolating pure pathogen culture****Anastasia A. Troshkova<sup>1✉</sup>, Anastasia B. Iaremkina<sup>2</sup>,  
Aleksandr N. Ignatov<sup>3</sup>, Elena P. Kononova<sup>4</sup>,  
Olga Yu. Slovareva<sup>5</sup>**<sup>1, 2, 4, 5</sup> All-Russian Plant Quarantine Center, Bykovo, Russia<sup>1</sup> Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia<sup>3, 5</sup> People's Friendship University of Russia, Moscow, Russia<sup>1</sup> anades13@yandex.ru✉

**Abstract.** The causative agent of bacterial leaf stripe/blight of Poaceae plants, *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* (Manns, 1909; Willems et al., 1992), has been characterized in recent years by increased aggressiveness towards cereals and the expansion of its range. Effective control of this phytopathogen requires optimization of methods for isolating the pathogen into pure culture and artificially infecting plants (phytopathological analysis). The purpose of this study was to evaluate the suitability of methods for isolating the pathogen from infected plants into pure culture using various culture media corresponding to morphological characteristics of bacterial colonies of *A. avenae* subsp. *avenae* and to optimize the conditions of infection of wheat and corn with the causative agent of bacterial leaf stripe. For pathogen cultivation, 5 culture media were tested, i.e. YDC, MPA, KGA, King's B, and R2A. It has been established that the R2A medium provides the most favorable conditions for the growth of bacterial cells, with the best properties for isolating *A. avenae* subsp. *avenae*. Pathogen pure culture can easily be obtained by inoculating R2A plates with extracts from infected wheat and corn plants. The colonies of *A. avenae* subsp. *avenae* on R2A were easily distinguishable from those of other bacteria occurred in the analyzed samples: they are shiny, creamy in color, had a round shape with a convex profile, a smooth surface, and a diameter of 1-5 mm. In corn, the maximum expression of typical symptoms of bacterial disease, such as wilting and elongated necrotic streaks on the leaves, was only observed when the suspension was injected into the stem using the specified method. There was a difference in the virulence of *A. avenae* subsp. *avenae* with respect to the host plant. Symptoms of disease were present in each inoculated maize plant, with damage up to 100% of the leaf surface. In contrast, wheat plants were affected only locally and on a limited number of leaves. There was no difference in the manifestation of symptoms between the use of suspension at concentrations of  $10^6$  and  $10^8$  CFU/ml.

**Keywords:** grain crops, morphology of bacterial colonies, molecular genetic identification methods, diagnostics of phytopathogens, PCR, bacterial isolation, phytosanitary requirements

**Funding:** the paper was prepared based on the results of research carried out as part of State assignment to All-Russian Plant Quarantine Center (FGBU «VNIIKR»), registration number EGISU NIOKTR 124022800055-1.

**For citation:** Troshkova A.A., Iaremko A.B., Ignatov A.N., Kononova E.P., Slovareva O.Yu. Comparative analysis of conditions for infection of wheat and corn with bacterial leaf stripe, *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*, and assessing the suitability of methods for isolating pure pathogen culture. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta* = *Vestnik of Voronezh State Agrarian University*. 2026;19(1):51-65. (In Russ.). [https://doi.org/10.53914/issn2071-2243\\_2026\\_1\\_51-65](https://doi.org/10.53914/issn2071-2243_2026_1_51-65).

**Введение**  
Фитопатогенная бактерия *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* (Manns, 1909; Willems et al., 1992) [30] вызывает бактериальную полосатость и ожог листьев у многих представителей семейства Злаковые, включая овес (*Avena sativa* L.), пшеницу (*Triticum aestivum* L.), рис (*Oryza sativa* L.), кукурузу (*Zea mays* L.), просо (*Panicum miliaceum* L.) [5] и сахарный тростник (*Saccharum officinarum* L.) [14]. Широкое распространение и усиление поражения злаковых культур возбудителем бактериальной полосатости и ожога листьев злаков в последние годы наблюдаются по всему миру, однако точная причина этого явления не установлена [8]. Бактерии могут быстро развиваться в новых регионах и на новых растениях-хозяевах из-за больших размеров эпифитной популяции и высокого генетического разнообразия, поэтому для разработки эффективных методов диагностики, селекции устойчивых сортов и разработки методов защиты растений требуется более глубокое понимание биологии и генетического разнообразия патогена.

Патоген был первоначально описан как возбудитель полосатости листьев овса в Огайо в 1909 г. и назван *Pseudomonas avenae* (Manns, 1909) [5]. Впоследствии бактерию выделяли из злаковых культур на 5 континентах во многих странах, включая Китай [31], США [11, 12], Корею [18], Иран [27] и др. В 2024 г. впервые было опубликовано сообщение о заболевании листового чая (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze), вызываемом *A. avenae* subsp. *avenae* в Северной Бенгалии и Ассаме (Индия), симптомами которого являлись некрозы коричневого или черного цвета, пропитанные водой по краю поражения [21].

В соответствии с современной классификацией вид *A. avenae* subsp. *avenae* принадлежит роду *Acidovorax*, семейству Comamonadaceae, порядку Burkholderiales, классу Betaproteobacteria, типу Pseudomonadota, царству Pseudomonadati, домену Bacteria. Первоначально патоген определяли как представителя нефлуоресцирующих псевдомонад – *Pseudomonas avenae*, а впоследствии его систематика многократно изменялась [5].

Бактерия аэробная грамотрицательная, имеет вид прямых или слегка изогнутых палочек, подвижная благодаря наличию одного полярного жгутика, редко двух или трех полярных жгутиков [24]. На питательном агаре (Nutritive agar – NA) [10] образует колонии

по форме круглые, полупрозрачные, бело-кремового или желтого цвета с целыми или слегка зубчатыми краями. При оптимальной температуре 30–35 °С колонии *A. avenae* subsp. *avenae* могут достигать диаметра 0,5–3 мм за 3 дня и 4 мм за 7 дней [30].

Бактерия вызывает у злаковых растений симптомы в виде узких продольных некротизированных полос на листьях, от белого до соломенного цвета, и первоначально кажущихся пропитанными водой и полупрозрачными, а также симптомы листового ожога, красной полосатости, стеблевой гнили [14]. Пораженные растения отстают в росте, а затем и вовсе погибают. Отмечено снижение массы початков кукурузы на 10–15% у зараженных растений по сравнению с незараженными [22].

Проявлению симптомов бактериальной полосатости листьев способствует высокая относительная влажность воздуха (> 60%), высокая температура (30–35 °С) и обильные осадки [28]. Источником первичной инфекции служат зараженные семена. Симптомы на семенах не могут быть обнаружены по внешним признакам, что свидетельствует о латентной фазе инфекции.

Известны случаи потери урожая вследствие бактериоза, вызываемого *A. avenae* subsp. *avenae*, достигающие 24,3–36,7%, а в некоторых случаях – 75%, в связи с чем вид регулируется фитосанитарными требованиями [5]. В Российской Федерации *A. avenae* subsp. *avenae* не имеет фитосанитарного статуса и поэтому не регулируется. О распространении бактерии на территории России данные отсутствуют, при этом и злаки культурные (*Avena sativa* L., *Oryza sativa* L., *Zea mays* L., *Triticum aestivum* L., *Sorghum bicolor* L.), и злаки дикорастущие (*Agropyron* Gaertn., *Bromus catharticus* Vahl, *Bromus inermis* Leyss., *Bromus marginatus* Nees ex Steud., *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.) как потенциальные хозяева патогена широко встречаются в различных географических поясах нашей страны.

Отсутствие сведений о распространении, а также стандартных методик выявления и идентификации патогена не позволяют оценить риск при экспорте зерновой продукции из Российской Федерации в страны, регулирующие *A. avenae* subsp. *avenae*. В сложившейся ситуации актуальной является разработка диагностического протокола, одним из обязательных компонентов которого при идентификации бактерий служит метод выделения бактерий в чистую культуру и их фитопатологический анализ. Для культивирования *A. avenae* subsp. *avenae* подходят среды общего назначения: мясопептонный агар (МПА) [10], глюкозо-дрожжевой меловой агар / дрожжевой декстрозно-карбонатный агар (ГДМА) [6, 10], картофельно-глюкозный агар (КГА) [6] и среда Кинга В [6]. В разрабатываемые диагностические протоколы, как правило, включают до двух видов селективных и общих питательных сред, чтобы упростить процесс изоляции. В связи с этим проводят опыты по определению оптимальной среды для изоляции и культивирования патогена. Предпочтение отдают среде, обеспечивающей максимальную скорость роста колоний, простоту отделения колоний целевой бактерии от сопутствующих, при этом важным фактором является обеспечение роста максимального числа бактериальных клеток целевой бактерии в суспензии изучаемого образца (растения, почвы, воды). Сравнительный анализ характеристик сред МПА, КГА, ГДМА и Кинга В для выделения *A. avenae* subsp. *avenae* ранее не проводился. Кроме того, в последнее время для изоляции ряда возбудителей бактериозов зерновых культур, а также для последующего подтверждающего анализа методом MALDI-TOF используется среда R2A [1, 3], которая еще не была апробирована для *A. avenae* subsp. *avenae*.

Цель данного исследования заключалась в оценке пригодности методов выделения возбудителя из зараженных растений в чистую культуру с помощью различных питательных сред и соответствующей им морфологической характеристики бактериальных колоний *A. avenae* subsp. *avenae*, а также в оптимизации условий заражения пшеницы и кукурузы возбудителем бактериальной полосатости листьев.

### Методика эксперимента

В качестве объекта исследования выбран типовой штамм *A. avenae* subsp. *avenae* VNIKR-B 0456<sup>T</sup> из исследовательской коллекции ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений» (CFBP 2425<sup>T</sup> = ATCC 19860<sup>T</sup>; CCUG 15838<sup>T</sup>; CIP 106500<sup>T</sup>; DSM 7227<sup>T</sup>; ICMP 3183<sup>T</sup>; JCM 20985<sup>T</sup>; LMG 2117<sup>T</sup>; NCPPB 1011<sup>T</sup>). Исследование проводили в 2024 г.

На агаризованные питательные среды МПА, ГДМА, КГА, модифицированную R2A и агар Кинга В (табл. 1) в четырехкратной повторности высевали по 50 мкл суспензий бактерии в четвертом (1:10000), пятом (1:100000) и шестом (1:1000000) разведении.

Таблица 1. Состав использованных питательных сред общего назначения (pH 7,2)

| Компоненты                                                         | Среда и содержание компонентов, г/л |      |      |       |         |
|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|------|------|-------|---------|
|                                                                    | МПА                                 | ГДМА | КГА  | R2A*  | Кинга В |
| Пептон/протеазный пептон                                           | 10,0                                | –    | –    | 0,5   | 20,0    |
| Дрожжевой экстракт                                                 | –                                   | 10,0 | –    | 0,5   | –       |
| Мясной экстракт                                                    | 11,0                                | –    | –    | –     | –       |
| Глюкоза/декстроза                                                  | –                                   | 20,0 | 20,0 | 0,5   | –       |
| Глицерин                                                           | –                                   | –    | –    | –     | 10,0    |
| Казаминовые кислоты / гидролизат казеина                           | –                                   | –    | –    | 0,5   | –       |
| Пируват натрия                                                     | –                                   | –    | –    | 0,3   | –       |
| Крахмал растворимый/картофельный экстракт                          | –                                   | –    | 4,0  | 0,5   | –       |
| CaCO <sub>3</sub>                                                  | –                                   | 20,0 | –    | –     | –       |
| NaCl                                                               | 5,0                                 | –    | –    | –     | –       |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> / Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | –                                   | –    | –    | 0,3   | 1,5     |
| MgSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O                              | –                                   | –    | –    | 0,024 | 1,5     |
| Агар                                                               | 15,0                                | 20,0 | 15,0 | 23,0  | 14,0    |

Примечание: \* – среда модифицирована увеличением содержания агара с 18 до 23 г/л.

Для приготовления суспензии бактерий использовали 48-ч культуру *A. avenae* subsp. *avenae*. Суспензии бактерии готовили в центрифужных микропробирках типа Эппендорф объемом 1,5 мл, используя стерильную дистиллированную воду. Приготовленные бактериальные суспензии сразу применяли для посева. Посев проводили с помощью шпателя Дригальского. Культуры инкубировали при 25 °C (MIR-254 Cooled Incubator, Panasonic Healthcare Corporation of North America).

Динамику роста бактериальных колоний фиксировали на протяжении 9 суток ежедневно. Описание морфологии колоний выполняли в соответствии с методикой Лавренчук и Ермошина [2]. Однофакторный дисперсионный анализ полученных данных о числе колоний осуществляли с использованием надстроек Microsoft Excel. Для попарного сравнения средних значений числа колоний в зависимости от среды и концентрации высеваемой суспензии проводили апостериорный тест Тьюки-Крамера. Влияние среды на диаметр колоний оценивали путем сравнения общих площадей под кривыми на графике динамики роста колоний.

После подбора оптимальной среды для роста *A. avenae* subsp. *avenae* применяли соответствующую среду для наработки инокулюма и последующего заражения растений пшеницы и кукурузы. Растения выращивали в пластиковых емкостях объемом 10 л, субстрат – торфяная смесь (Veltorf, Россия). В опыте брали по 30 растений на каждый вариант заражения. Растения пшеницы сорта Губернатор Дона (оригинатор – ФГБНУ «Федеральный Ростовский аграрный научный центр») заражали в фазе кущения, а растения кукурузы сорта Лакомка Белогорья (оригинатор – научное сельскохозяйственное селекционно-семеноводческое ООО «Белкорн») – в фазе 3–5 листьев.

Для заражения готовили водные суспензии *A. avenae* subsp. *avenae* в центрифужных микропробирках, доводя их до концентрации  $10^6$  и  $10^8$  КОЕ/мл, используя соответствующие стандарты мутности Мак-Фарланда (ООО «ДЕЗНЭТ», Москва, Россия). Полученные бактериальные суспензии сразу же применяли для заражения. Заражение проводили двумя способами. Первый способ заключался в инъекции 10 мкл бактериальной суспензии в стебель растения при помощи шприца и гиподермальной иглы, второй – в механическом повреждении листа стерильной иглой и нанесении на место повреждения 10–15 мкл суспензии. В качестве отрицательного контроля использовали стерильную воду. Растения инкубировали при относительной влажности воздуха 70% и температуре 25 °С. Вариант с отрицательным контролем пространственно изолировали от зараженных растений.

Наблюдения за растениями проводили ежедневно, а проявление симптомов документировали на 1, 2, 5 и 8-е сутки после инокуляции, инструментальный контроль зараженности растений – через 16 суток после заражения согласно протоколу РМ 7/24 (4) [9]. Отбирали пробы массой 2–5 г симптоматических частей растений (хлороз, некроз, увядание), измельчали при помощи ножниц и помещали в пластиковый стаканчик с крышкой. Затем к пробе добавляли 30 мл фосфатно-солевого буфера (PBS). Устанавливали стаканчик на лабораторный шейкер при режиме 200 об/мин и инкубировали в течение 45 мин. Затем жидкую часть пробы отделяли от примесей растительных тканей с помощью обеззоленного фильтра «Синяя лента» (3–5 мкм). Используя центрифужные пробирки типа Oak-Ridge объемом 50 мл, центрифугировали жидкую часть пробы в течение 10 мин. при ускорении 10 тыс. g в центрифуге с охлаждением при +4 °С. Сразу после центрифугирования супернатант удаляли, а полученный осадок ресуспендировали в 1 мл PBS, встряхивали и переносили в центрифужную пробирку типа Эппендорф объемом 1,5 мл. Полученный экстракт использовали для выделения ДНК и бактерий. ДНК выделяли из экстракта сорбционным методом с помощью набора «Проба-ГС» (ООО «Агродиагностика», Москва, Россия), используя 200 мкл пробы.

Зараженность проб тестировали методом классического ПЦР-анализа с последующей детекцией продуктов реакции при помощи электрофореза в 1,5% агарозном геле в стандартном трис-боратном буфере (TBE). ПЦР-диагностику на наличие целевой бактерии проводили с использованием праймеров Oaf1 (5GTC GGT GCT AAC GAC ATG G-3') / Oar1 (5'-AGA CAT CTC CGC TTT CTT TCA A-3') на целевой ген 16-23S ISR (Internal spacer region) [17, 26], аналогичных ранее опубликованным праймерам SEQ ID NO: 01/SEQ ID NO: 02 [25], на амплификаторе C1000 (Bio-Rad Laboratories Inc., США). Реакцию проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 5,0 мкл мастер-микса 5X ScreenMix, (ЗАО «Евроген», Россия), по 1 мкл каждого праймера в концентрации 10 пМ и 2,0 мкл темплатной ДНК. В соответствии с лабораторным регламентом ФГБУ «ВНИИКР» в качестве внутреннего положительного контроля использовали праймеры Mus714F/Mus714R, специфичные к фрагменту гена 1700042G15Rik некодирующей последовательности ДНК мыши, добавляемой в состав ПЦР смеси [4].

Программа амплификации: горячий старт при 95 °С в течение 5 мин., 35 циклов денатурации при 95 °С в течение 15 с, отжиг при 55 °С в течение 20 с, элонгация при 72 °С в течение 30 с и финальная элонгация при температуре 72 °С в течение 5 мин. Полученные ПЦР-продукты визуализировали путем электрофореза с окраской красителем бромистый этидий и документировали при помощи системы ChemiDoc™ XRS+ (Bio-Rad Laboratories Inc., США).

### Результаты и их обсуждение

Особенности роста *A. avenae* subsp. *avenae* на питательных средах

Спустя 7 суток инкубирования при 25 °С на среде ГДМА колонии штамма *A. avenae* subsp. *avenae* VNIKR-B-0456<sup>T</sup> имели круглую форму, выпуклый профиль, целый край, оранжевый цвет, но по краям кремового оттенка, гладкую поверхность и блеск. Диаметр колоний на чашках Петри четвертого разведения ( $1:10^4$ ) составлял 4–9 мм (рис. 1, а).

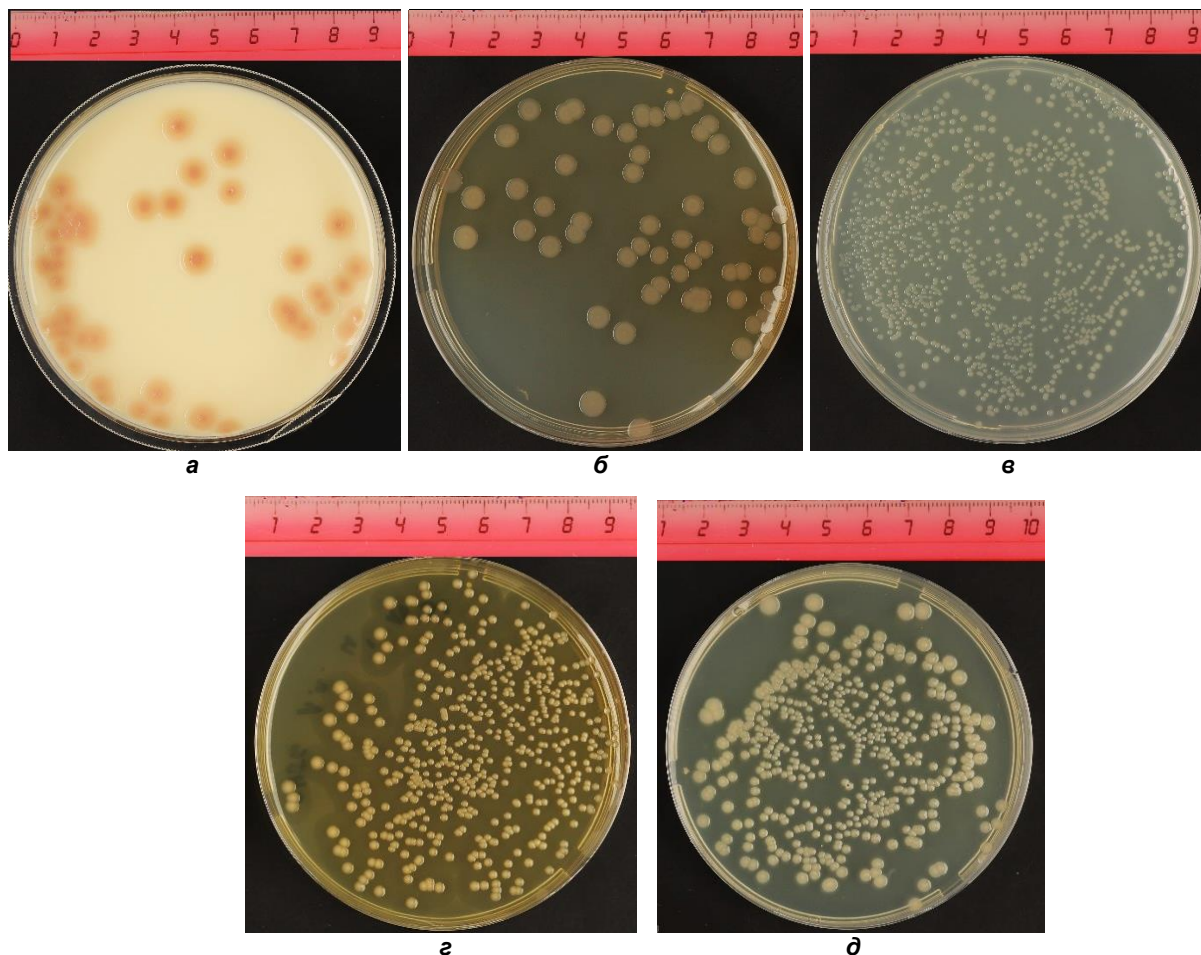


Рис. 1. Колонии *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* через 7 суток инкубирования при 25 °С на средах: а – ГДМА; б – Кинга В; в – R2A; г – МПА; д – КГА при посеве четвертого разведения ( $1:10^4$ )

На среде Кинга В колонии штамма *A. avenae* subsp. *avenae* VNIKR-B-0456<sup>T</sup> круглые, с выпуклым профилем, целым краем, диаметром 3–5 мм, кремового цвета, с гладкой поверхностью и характерным блеском (рис. 1, б). Колонии бактерии на среде R2A имели круглую форму, выпуклый профиль, целый край, диаметр 1–2 мм, кремовый цвет, гладкую поверхность и блеск (рис. 1, в). На среде МПА колонии *A. avenae* subsp. *avenae* гладкие и блестящие, полупрозрачные, светло-желтого цвета, круглые, с выпуклым профилем, целым краем, диаметром 1–3 мм, вокруг колоний наблюдался заметный ореол (рис. 1, г). На среде КГА колонии *A. avenae* subsp. *avenae* имели круглую форму с фестончатым краем, выпуклый профиль, диаметр 2–6 мм, кремовый цвет, гладкую поверхность и блеск (рис. 1, д).

В результате подсчета числа колоний *A. avenae* subsp. *avenae* на каждой чашке Петри и проведения однофакторного дисперсионного анализа обнаружены достоверные отличия ( $p < 0.05$ ) по критерию Тьюки-Крамера между группами средних в пределах каждого разведения –  $1:10^4$ ,  $1:10^5$ ,  $1:10^6$  (табл. 2).

Таблица 2. Зависимость числа колоний *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* VNIKR-B-0456<sup>T</sup> от используемой питательной среды и разведения образца бактерий

| Среда                                | Повтор  | Разведение         |                   |                   |
|--------------------------------------|---------|--------------------|-------------------|-------------------|
|                                      |         | 1:10 <sup>4</sup>  | 1:10 <sup>5</sup> | 1:10 <sup>6</sup> |
| ГДМА                                 | 1       | 33                 | 13                | 3                 |
|                                      | 2       | 45                 | 17                | 1                 |
|                                      | 3       | 26                 | 16                | 2                 |
|                                      | 4       | 36                 | 8                 | 2                 |
|                                      | Среднее | 35 <sup>a</sup>    | 13,5 <sup>a</sup> | 2 <sup>a</sup>    |
| Кинга В                              | 1       | 69                 | 7                 | 4                 |
|                                      | 2       | 58                 | 8                 | 9                 |
|                                      | 3       | 72                 | 10                | 5                 |
|                                      | 4       | 61                 | 7                 | 6                 |
|                                      | Среднее | 65 <sup>b</sup>    | 8 <sup>a</sup>    | 6 <sup>a</sup>    |
| R2A                                  | 1       | 789                | 150               | 14                |
|                                      | 2       | 770                | 130               | 12                |
|                                      | 3       | 776                | 127               | 9                 |
|                                      | 4       | 785                | 153               | 8                 |
|                                      | Среднее | 780 <sup>e</sup>   | 140 <sup>c</sup>  | 10,8 <sup>b</sup> |
| МПА                                  | 1       | 744                | 109               | 6                 |
|                                      | 2       | 742                | 99                | 6                 |
|                                      | 3       | 741                | 112               | 1                 |
|                                      | 4       | 740                | 108               | 11                |
|                                      | Среднее | 751,8 <sup>d</sup> | 107 <sup>b</sup>  | 6 <sup>a</sup>    |
| КГА                                  | 1       | 172                | 14                | 1                 |
|                                      | 2       | 133                | 31                | 2                 |
|                                      | 3       | 169                | 13                | 6                 |
|                                      | 4       | 150                | 20                | 3                 |
|                                      | Среднее | 156 <sup>c</sup>   | 19,5 <sup>a</sup> | 3 <sup>a</sup>    |
| р-значение<br>(при $\alpha = 0,05$ ) |         | 1,664E-23          | 1,408E-13         | 0,0025            |

Примечание: буквенные индексы обозначают группы средних, различия между которыми статистически значимы на основе проведения апостериорного теста Тьюки-Крамера.

При разведении 1:10<sup>6</sup> число колоний *A. avenae* subsp. *avenae* на R2A существенно превышало указанный показатель на других вариантах сред (табл. 2). То же отмечено при разведении 1:10<sup>5</sup>, однако на МПА число колоний больше, чем на средах Кинга В, КГА и ГДМА. При разведении 1:10<sup>4</sup> различалось число колоний между всеми вариантами сред, наибольшее число отмечено на R2A, затем идут МПА, КГА, Кинга В и ГДМА (табл. 2).

Таким образом, R2A обеспечивает максимальную возможность для образования колоний *A. avenae* subsp. *avenae*. Очевидно, что лучшие показатели на этой среде связаны с наиболее сложным компонентным составом (табл. 1), подобранным для бактериологического анализа воды [23]. Среда, богатая питательными веществами, например МПА, КГА и ГДМА, подавляют медленно растущие микроорганизмы, тогда как среда Кинга В является оптимальной для группы флуоресцирующих псевдомонад [16].

Пептон, дрожжевой экстракт и гидролизат казеина в составе R2A являются источниками азота, витаминов, минеральных солей и аминокислот, необходимых для роста *A. avenae* subsp. *avenae*. Декстроза (глюкоза) является ферментируемым углеводом и служит источником углерода и энергии [29]. Крахмал абсорбирует токсические продукты [13, 15], в том числе – жизнедеятельности микроорганизмов и растений, а пирuvat натрия способствует росту покоящихся клеток бактерий [7]. Сульфат магния является источником двухвалентных катионов и сульфата [19]. Дикалий фосфат используется для сохранения баланса pH и как источник фосфора [20].

Наличие зависимости диаметра колоний от используемой питательной среды и разведения образца бактерий оценивали, изучая результаты анализа площади под кривой роста диаметра колоний (табл. 3).

**Таблица 3. Зависимость площади под кривой роста диаметра колоний штамма *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* VNIKR-B-0456<sup>T</sup> от используемой питательной среды и разведения образца бактерий**

| Среда                                      | Разведение        |                   |                   |
|--------------------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|                                            | 1:10 <sup>4</sup> | 1:10 <sup>5</sup> | 1:10 <sup>6</sup> |
| ГДМА                                       | 33,2 <sup>a</sup> | 40,7 <sup>a</sup> | 40,5 <sup>b</sup> |
| Кинга В                                    | 21,5 <sup>b</sup> | 28,1 <sup>b</sup> | 28,1 <sup>c</sup> |
| R2A                                        | 11,7 <sup>c</sup> | 21,2 <sup>c</sup> | 32,3 <sup>c</sup> |
| МПА                                        | 13,5 <sup>c</sup> | 25,7 <sup>b</sup> | 32,9 <sup>c</sup> |
| КГА                                        | 23,3 <sup>b</sup> | 36,9 <sup>a</sup> | 47,6 <sup>a</sup> |
| Доверительный интервал ( $\alpha = 0,05$ ) | 7,6               | 7,1               | 6,8               |

Примечание: буквенные индексы обозначают группы средних, различия между которыми статистически значимы на основе попарного сравнения с доверительным интервалом ( $\alpha = 0,05$ ).

Из приведенных в таблице 3 данных видно наличие различий между вариантами. При разведении 1:10<sup>4</sup> диаметр колоний на ГДМА существенно превышал указанный показатель на R2A и МПА. На ГДМА и КГА колонии *A. avenae* subsp. *avenae* были крупнее, чем на R2A и МПА при разведении 1:10<sup>5</sup>. При разведении 1:10<sup>6</sup> на КГА диаметр колоний больше, чем на Кинга В, R2A и МПА. Таким образом, диаметр колоний *A. avenae* subsp. *avenae* на используемых средах отличался между вариантами в зависимости от разведения высеваемой бактериальной суспензии, но общий тренд увеличения диаметра колоний при каждом разведении между вариантами сред не прослеживался.

Особенности заражения растений культурой *A. avenae* subsp. *avenae*

Подобрав оптимальную среду R2A для роста и накопления биомассы бактерий, проводили заражение растений суспензией бактерий. В результате инокуляции растений отмечены типичные симптомы бактериальной полосатости листьев как на пшенице, так и на кукурузе (рис. 2).

Симптомы были идентичны для различных использованных концентраций бактерий. При заражении кукурузы методом инъекции в стебель через 24 часа вдоль сосудов листьев появились первые симптомы в виде вытянутых узких прозрачных, как бы пропитанных водой, пятен и полос, обусловленных накоплением в сосудах бактериальной массы и экзополисахарида бактерий (рис. 2, а).

Через 5 суток наблюдали первичные симптомы увядания растений кукурузы, сопровождающиеся хлоротичностью и почернением листьев. Черные полосы располагались вдоль всего листа. При высокой относительной влажности воздуха в вечерние и ночные часы на некоторых листьях при сильном поражении наблюдали бактериальный экссудат в виде желтых капель, вытянутых вдоль листьев, которые впоследствии подсыхали, образуя тонкую глянцевую пленку (рис. 2, б).



Рис. 2. Симптомы бактериоза через 5–8 дней после искусственного заражения растений кукурузы (а, б, в, г) и пшеницы (д, е, ж, з) штаммом *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* 0456

Спустя 8 суток на всех растениях кукурузы, зараженных методом инъекции бактериальной суспензии в стебель, можно было наблюдать типичные симптомы увядания, сопровождающиеся некротизацией сильно пораженных листьев и стеблей. Площадь некроза могла достигать 100% листовой поверхности (рис. 2, в). В то же время при заражении методом механического повреждения листа симптомы в виде локальных хлоротичных и некротичных пятен наблюдали только в местах повреждения и нанесения инокулюма (рис. 2, г). На 8-е сутки после заражения методом механического повреждения листьев типичные симптомы увядания на растениях кукурузы отмечены не были.

При заражении пшеницы методом инъекции через 2-е суток на большинстве листьев наблюдали реакцию сверхчувствительности, сопровождающуюся выпадениями тканей листа округлой формы (рис. 2, д) из-за использования для заражения концентрированной бактериальной суспензии.

Бактериоз на 2-е сутки после заражения проявлялся также в виде длинных полос соломенного цвета, локализованных по краям листьев (рис. 2, е). Через 5 суток после заражения отмечали появление некрозов вытянутой формы на стеблях в местах укола (рис. 2, ж). При заражении методом механических повреждений листьев отмечали симптомы бактериоза в виде хлоротичных и некротичных пятен на краях некоторых листьев (рис. 2, з).

*Подтверждение присутствия A. avenae subsp. avenae в растениях*

ПЦР-анализ зараженных *A. avenae subsp. avenae* растений с праймерами Oaf1/Oar1 показал наличие заражения в каждом варианте, независимо от способа заражения и концентрации используемой суспензии (рис. 3).

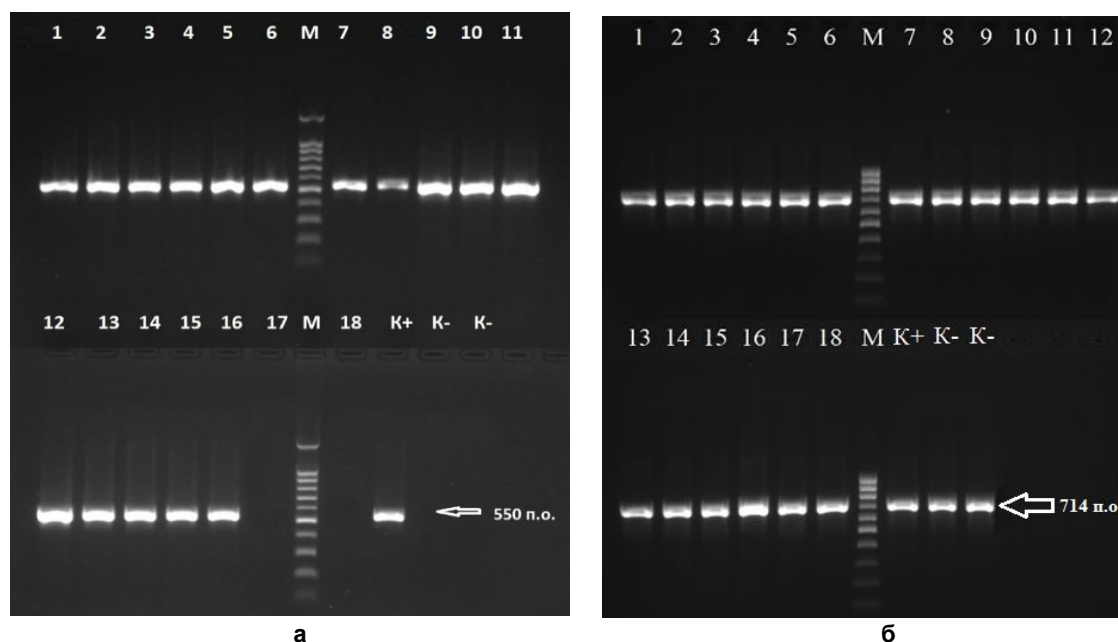


Рис. 3. Электрофореграмма результатов теста Oaf1/Oar1 (а) и внутреннего положительного контроля при тестировании растительных экстрактов (б). М – маркер длин ДНК 100+ bp (ООО «Евроген», Москва, Россия): 1–8 – пшеница; 9–16 – кукуруза. 1, 2 – заражение *A. avenae subsp. avenae*  $10^8$  КОЕ/мл методом прокола; 3, 4 – заражение *A. avenae subsp. avenae*  $10^6$  КОЕ/мл методом прокола; 5, 6 – заражение *A. avenae subsp. avenae*  $10^8$  КОЕ/мл методом механических повреждений; 7, 8 – заражение *A. avenae subsp. avenae*  $10^6$  КОЕ/мл методом механических повреждений; 9, 10 – заражение *A. avenae subsp. avenae*  $10^8$  КОЕ/мл методом прокола; 11, 12 – заражение *A. avenae subsp. avenae*  $10^6$  КОЕ/мл методом прокола; 13, 14 – заражение *A. avenae subsp. avenae*  $10^8$  КОЕ/мл методом механических повреждений; 15, 16 – заражение *A. avenae subsp. avenae*  $10^6$  КОЕ/мл методом механических повреждений; 17, 18 – отрицательный контроль опыта. К+ – положительный контрольный образец; К- – отрицательный контроль амплификации

ПЦР-анализ с праймерами Oaf1/Oar1 позволил идентифицировать *A. avenae subsp. avenae* в зараженных растениях с образованием ожидаемого специфического ПЦР-продукта длиной 550 п.о. (рис. 3, а). В отрицательных контролях специфический

продукт отсутствовал. Наличие на электрофореграмме ПЦР-продуктов длиной 714 п.о. (внутренний контроль) показывает, что ПЦР-реакция не была ингибирована, что подтверждает достоверность полученных результатов (рис. 3, б).

Выделение *A. avenae* subsp. *avenae* из зараженных образцов в чистую культуру

Доказать присутствие жизнеспособных колоний в зараженном экстракте можно методом посева растительного образца и отборе схожих по морфологии бактериальных колоний. Отдельные колонии целевой бактерии отчетливо различимы при посеве аналитических проб кукурузы и пшеницы, зараженных суспензией штамма *A. avenae* subsp. *avenae* VNIKR-B-0456<sup>T</sup> в концентрации  $1 \times 10^6$  КОЕ/мл. В третьем разведении на чашке Петри диаметр колоний возбудителя достигал 5 мм (рис. 4).

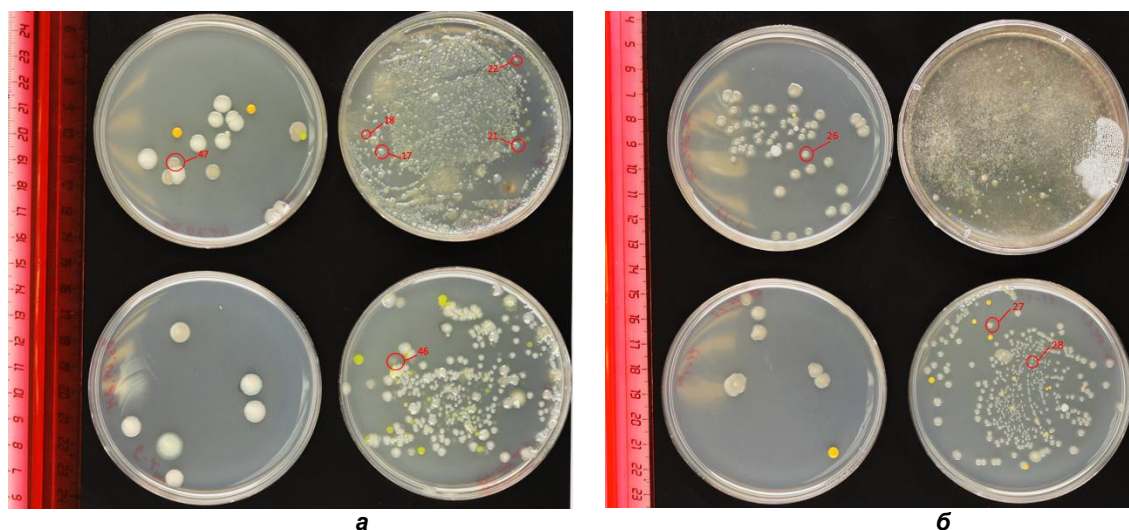


Рис. 4. Колонии бактерий на среде R2A после 10 суток инкубирования при 25 °С. Колонии *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* обведены красным и обозначены цифрами: а – растительный экстракт пшеницы, б – растительный экстракт кукурузы

На выбранной среде R2A доступна изоляция чистой культуры из растений с симптомами. Тестирование отобранных колоний методом классической ПЦР с праймерами Oaf1/Oar1 позволило подтвердить их принадлежность к виду *A. avenae* subsp. *avenae* (рис. 5).

Результат ПЦР-тестирования колоний с праймерами Oaf1/Oar1 позволил идентифицировать их как *A. avenae* subsp. *avenae*, подтверждением этого служит специфический ПЦР-продукт длиной 550 п.о. (рис. 5, а). Ингибирование ПЦР не наблюдалось, о чем свидетельствует наличие продукта длиной 714 п.о. (рис. 5, б).

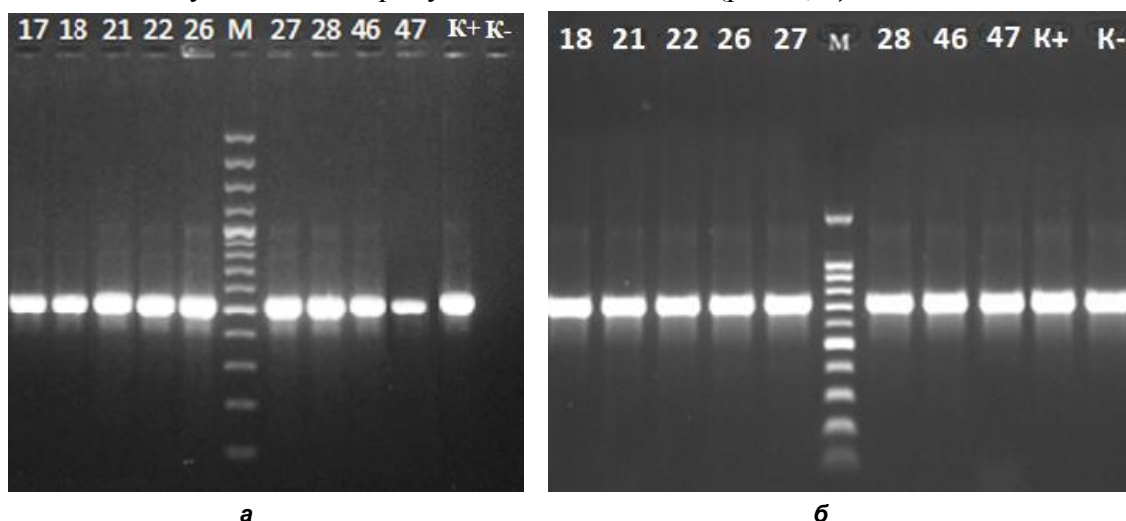


Рис. 5. Электрофореграмма результатов теста Oaf1/Oar1 (а) и внутреннего положительного контроля при тестировании колоний *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* (б). М – маркер длин ДНК 100+ бр (ООО «Евроген», Москва, Россия)

### Заключение

Среди 5 испытанных сред – ГДМА, МПА, КГА, Кинга В и R2A – лучшие свойства для изоляции возбудителя бактериальной полосатости листьев злаковых культур *A. avenae* subsp. *avenae* показала среда R2A. При посеве трех предельных разведений ( $1:10^4$ ,  $1:10^5$ ,  $1:10^6$ ) бактериальной суспензии на среде R2A образуется значительно больше колоний, чем на ГДМА, МПА, КГА, Кинга В. Таким образом, среда R2A обеспечивает максимальную возможность для роста бактериальных клеток.

Указанное свойство делает среду R2A оптимальной для выделения *A. avenae* subsp. *avenae*. Чистая культура возбудителя легко может быть изолирована при посеве экстрактов из зараженных растений пшеницы и кукурузы с симптомами бактериоза в виде длинных узких коричневых полос на листьях. Колонии *A. avenae* subsp. *avenae* на R2A хорошо отличимы от колоний сопутствующих бактерий, они блестящие, кремовые, имеют круглую форму, выпуклый профиль, целый край, диаметр 1–5 мм, гладкую поверхность.

При заражении растений кукурузы и пшеницы не отмечена разница в проявлении симптомов между использованием суспензии в концентрации  $10^6$  и  $10^8$  КОЕ/мл. На кукурузе максимальное проявление типичных симптомов бактериоза отмечено при использовании метода инъекции суспензии в стебель, в то время как проявление симптомов бактериоза на пшенице не зависело от метода заражения.

Отмечена разница в проявлении вирулентности *A. avenae* subsp. *avenae* в отношении растения-хозяина – симптомы бактериоза присутствовали на каждом растении кукурузы с поражением до 100% листовой поверхности, в то время как растения пшеницы были поражены локально и на ограниченном количестве листьев.

Таким образом, оптимизированы компоненты разрабатываемой методики идентификации патогена *A. avenae* subsp. *avenae* и выявления его в растительном материале и семенах – среда для выделения возбудителя в чистую культуру и условия искусственного заражения растений (фитопатологический анализ).

### Список источников

1. Десятерик А.А., Словарева О.Ю., Кононова Е.П. Изоляция возбудителя бурой бактериальной гнили влагалища листа злаковых культур *Pseudomonas fuscovaginae* из семян // Фитосанитария. Карантин растений. 2023. Т. 4, № 16. С. 67–76. DOI: 10.69536/d2760-4051-0503-z.
2. Лавренчук Л.С., Ермошин А.А. Микробиология: практикум. Екатеринбург: Издательство Уральского университета. 2019. 107 с.
3. Игнатьева И.М., Кононова Е.П. Применение масс-спектрометрического анализа при определении таксономической принадлежности фитопатогенных бактерий рода *Curtobacterium* // Фитосанитарная безопасность: угрозы, вызовы и пути решения: материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 65-летию основания института (Алматы, 14–15 декабря 2023 г.). Алматы: ТОО «Казахский НИИ защиты и карантина растений имени Жазкена Жиенбаева», 2023. С. 459–464.
4. Мазурин Е.С., Копина М.Б., Широколава Н.А. Контроль достоверности результатов фитосанитарной экспертизы при использовании молекулярных методов диагностики // Вестник РУДН. Серия: Агрономия и животноводство. 2012. № 3. С. 31–37.
5. Трошкова А.А., Словарева О.Ю. Фитосанитарный статус и эволюция номенклатуры возбудителя бактериальной полосатости и ожога листьев злаков *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* (Manns, 1909; Willems et al., 1992) // Масличные культуры. 2025. № 4(204). С. 134–143. DOI: 10.25230/2412-608X-2025-4-204-134-143.
6. Bertani R.P., Perera M.F., Joya C.M. et al. Genetic diversity and population structure of *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* isolated from sugarcane in Argentina // Plant Pathology. 2021. Vol. 70(7). Pp. 1719–1732. DOI: 10.1111/ppa.13413.
7. Calabrese J.P., Bissonnette G.K. Improved membrane filtration method incorporating catalase and sodium pyruvate for detection of chlorine-stressed coliform bacteria // Applied and Environmental Microbiology. 1990. Vol. 56(11). Pp. 3558–3564. DOI: 10.1128/aem.56.11.3558-3564.1990.
8. Cother E.J., Noble D.H., Van De Ven R.J. et al. Bacterial pathogens of rice in the Kingdom of Cambodia and description of a new pathogen causing a serious sheath rot disease // Plant Pathology. 2010. Vol. 59(5). Pp. 944–953. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2010.02310.x.
9. EPPO Standard on Diagnostics PM 7/24 (5) *Xylella fastidiosa* // EPPO Bulletin. 2023. Vol. 53. Pp. 205–276. DOI: 10.1111/epp.12923.

10. Fontana P.D., Rago A.M., Fontana C.A. et al. Isolation and genetic characterization of *Acidovorax avenae* from red stripe infected sugarcane in Northwestern Argentina // *European Journal of Plant Pathology*. 2013. Vol. 137(3). Pp. 525–534. DOI: 10.1007/s10658-013-0263-y.
11. Giordano P.R., Chaves A.M., Mitkowski N.A. et al. Identification, Characterization, and Distribution of *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* Associated with Creeping Bentgrass Etiolation and Decline // *Plant Disease*. 2012. Vol. 96(12). Pp. 1736–1742. DOI: 10.1094/pdis-04-12-0377-re.
12. Gitaitis R., Wilson J., Walcott R. et al. Occurrence of bacterial stripe of pearl millet in Georgia // *Plant Disease*. 2002. Vol. 86(3). Article No. 326. DOI: 10.1094/PDIS.2002.86.3.326B.
13. Haq F., Mehmood S., Haroon M. et al. Role of Starch Based Materials as a Bio-sorbents for the Removal of Dyes and Heavy Metals from Wastewater // *Journal of Polymers and the Environment*. 2022. Vol. 30. Pp. 1730–1748. DOI: 10.1007/s10924-021-02337-6.
14. Hernández-Juárez C., Silva-Rojas H.V., De León García de Alba C. et al. Molecular identification, incidence, and distribution of *Acidovorax avenae* in the sugarcane-producing agroecological regions of Mexico // *Sugar Tech*. 2021. Vol. 23(4). Pp. 891–899. DOI: 10.1007/s12355-021-00964.
15. Khoo P.S., Ilyas R.A., Uda M.N.A. et al. Starch-Based Polymer Materials as Advanced Adsorbents for Sustainable Water Treatment: Current Status, Challenges, and Future Perspectives // *Polymers (Basel)*. 2023. Vol. 15(14). Article No. 3114. DOI: 10.3390/polym15143114.
16. King E.O., Ward M.K., Raney D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin // *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 1954. Vol. 44. Pp. 301–307.
17. Li X.Y., Sun H.D., Rott P.C. et al. Molecular identification and prevalence of *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* causing red stripe of sugarcane in China // *Plant Pathology*. 2018. Vol. 67(4). Pp. 929–937. DOI: 10.1111/ppa.12811.
18. Myung I.S., Choi J.K., Wu J.M. et al. Bacterial stripe of hog millet caused by *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*, a new disease in Korea // *Plant Disease*. 2012. Vol. 96(8). Pp. 1222–1223. DOI: 10.1094/PDIS-03-12-0320-PDN.
19. NIH. PubChem Compounds CID 24083. Magnesium sulfate // National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Magnesium-Sulfate>.
20. NIH. PubChem Compounds CID 24450. Dipotassium phosphate // National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dipotassium-phosphate>.
21. Pandey A.K., Varghese S., Babu A. First report of bacterial leaf blight on tea: an emerging threat to the Indian tea industry // *European Journal of Plant Pathology*. 2024. Vol. 169. Pp. 131–136. DOI: 10.1007/s10658-024-02812-5.
22. Pataky J.K., Toit L.J. du, Kerns M.R. Bacterial leaf blight on shrunken-2 sweet corn // *Plant Disease*. 1997. Vol. 81(11). Pp. 1293–1298. DOI: 10.1094/PDIS.1997.81.11.1293.
23. Reasoner D.J., Geldreich E.E. A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water // *Applied and Environmental Microbiology*. 1985. Vol. 49(1). Pp. 1–7. DOI: 10.1128/aem.49.1.1-7.1985.
24. Saddler G.S. *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*. In: IMI Descriptions of Fungi and Bacteria. Wallingford, UK: CAB International. 1994. No. 1211. DOI: 10.1079/DFB/20056401211.
25. Schaad N.W., Song W.Y., Hatziloukas E. PCR primers for detection of plant pathogenic species and species of *Acidovorax* // United States Patent Number 6,146,834. 2000. 5 p.
26. Song W.Y., Sechler A.J., Hatziloukas E. et al. Use of PCR for rapid identification of *Acidovorax avenae* and *A. avenae* subsp. *citrulli* // Presentations from the 6th International Conference on *Pseudomonas syringae* and related pathogens (Maratea, Italy, September 15–19, 2002 [ed. by Iacobellis N.S., Collmer A., Hutcheson S.W. et al.]. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2003. Pp. 531–544. DOI: 10.1007/978-94-017-0133-4\_59.
27. Taghipour M., Rahimian H., Babaeizad V. Genetic diversity of *Acidovorax oryzae* in a single site in Mazandaran province, Iran // *Molecular Biology Reports*. 2021. Vol. 48(4). Pp. 3885–3888. DOI: 10.1007/s11033-021-06174-7.
28. Vesminsk G.E., China A., Canada A. Causes of the spread and development of sugarcane bacterial red stripe in Cuba (Causas de la propagacion y desarrollo en Cuba de la enfermedad raya roja bacteriana de la cana de azucar) // *Ciencias de la Agricultura*. 1978. Vol. 2. Pp. 53–64.
29. Vidaver A.K. Synthetic and complex media for the rapid detection of fluorescence of phytopathogenic pseudomonads: effect of the carbon source // *Applied Microbiology*. 1967. Vol. 15. Pp. 1523–1524. DOI: 10.1128/am.15.6.1523-1524.1967.
30. Willems A., Goor M., Thielemans S. et al. Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* subsp. nov., comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*, and *Acidovorax konjaci* // *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1992. Vol. 42(1). Pp. 107–119. DOI: 10.1099/00207713-42-1-107.
31. Zhao J.Y., Chen J., Hu Z-T. et al. Genetic and morphological variants of *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* cause red stripe of sugarcane in China // *Frontiers in Plant Science*. 2023. Vol. 14. Article No. 1127928. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1127928>.

## References

1. Desyaterik A.A., Slovareva O.Yu., Kononova E.P. Isolation of sheath brown rot pathogen *Pseudomonas fuscovaginae* from seeds. *Plant Health and Quarantine*. 2023;4(16):67-76. DOI: 10.69536/d2760-4051-0503-z. (In Russ.).
2. Lavrenchuk L.S., Ermoshin A.A. Microbiology: practical course. Yekaterinburg: Ural University Publishing House; 2019. 107 p. (In Russ.).
3. Ignatieva I.M., Kononova E.P. The use of mass spectrometric analysis in determining the taxonomic affiliation of phytopathogenic bacteria of the genus *Curtobacterium*. In: Phytosanitary safety: threats, challenges and solutions: Proceedings of the International Research-to-Practice Conference dedicated to the 65th anniversary of the founding of the Institute (Almaty, December 14-15, 2023). Almaty: Kazakh Research Institute of Plant Protection and Quarantine named after Zhazken Zhiembayev Publishers; 2023:459-464. (In Russ.).
4. Mazurin E.S., Kopina M.B., Sherokolava N.A. Controlling the reliability of results received during laboratory testing for phytosanitary purposes when molecular diagnostic methods are used. *RUDN Journal of Agronomy and Animal Husbandry*. 2012;3:31-37. (In Russ.).
5. Troshkova A.A., Slovareva O.Yu. Phytosanitary status and evolution of the nomenclature of the pathogen *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* (Manns, 1909; Willems et al., 1992) causing bacterial stripe and leaf blight of cereals. *Oil Crops*. 2025;4(204):134-143. DOI: 10.25230/2412-608X-2025-4-204-134-143. (In Russ.).
6. Bertani R.P., Perera M.F., Joya C.M. et al. Genetic diversity and population structure of *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* isolated from sugarcane in Argentina. *Plant Pathology*. 2021;70(7):1719-1732. DOI: 10.1111/ppa.13413.
7. Calabrese J.P., Bissonnette G.K. Improved membrane filtration method incorporating catalase and sodium pyruvate for detection of chlorine-stressed coliform bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 1990;56(11):3558-3564. DOI: 10.1128/aem.56.11.3558-3564.1990.
8. Cother E.J., Noble D.H., Van De Ven R.J. et al. Bacterial pathogens of rice in the Kingdom of Cambodia and description of a new pathogen causing a serious sheath rot disease. *Plant Pathology*. 2010;59(5):944-953. DOI: 10.1111/j.1365-3059.2010.02310.x.
9. EPPO Standard on Diagnostics PM 7/24 (5) *Xylella fastidiosa*. *EPPO Bulletin*. 2023;53:205-276. DOI: 10.1111/epp.12923.
10. Fontana P.D., Rago A.M., Fontana C.A. et al. Isolation and genetic characterization of *Acidovorax avenae* from red stripe infected sugarcane in Northwestern Argentina. *European Journal of Plant Pathology*. 2013;137(3):525-534. DOI: 10.1007/s10658-013-0263-y.
11. Giordano P.R., Chaves A.M., Mitkowski N.A. et al. Identification, Characterization, and Distribution of *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* Associated with Creeping Bentgrass Etiolation and Decline. *Plant Disease*. 2012;96(12):1736-1742. DOI: 10.1094/pdis-04-12-0377-re.
12. Gitaitis R., Wilson J., Walcott R. et al. Occurrence of bacterial stripe of pearl millet in Georgia. *Plant Disease*. 2002;86(3):326. DOI: 10.1094/PDIS.2002.86.3.326B.
13. Haq F., Mahmood S., Haroon M. et al. Role of Starch Based Materials as a Bio-sorbents for the Removal of Dyes and Heavy Metals from Wastewater. *Journal of Polymers and the Environment*. 2022;30:1730-1748. DOI: 10.1007/s10924-021-02337-6.
14. Hernández-Juárez C., Silva-Rojas H.V., De León García de Alba C. et al. Molecular identification, incidence, and distribution of *Acidovorax avenae* in the sugarcane-producing agroecological regions of Mexico. *Sugar Tech*. 2021;23(4):891-899. DOI: 10.1007/s12355-021-00964.
15. Khoo P.S., Ilyas R.A., Uda M.N.A. et al. Starch-Based Polymer Materials as Advanced Adsorbents for Sustainable Water Treatment: Current Status, Challenges, and Future Perspectives. *Polymers (Basel)*. 2023;15(14):3114. DOI: 10.3390/polym15143114.
16. King E.O., Ward M.K., Raney D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 1954;44:301-307.
17. Li X.Y., Sun H.D., Rott P.C. et al. Molecular identification and prevalence of *Acidovorax avenae* subsp. *Avenae* causing red stripe of sugarcane in China. *Plant Pathology*. 2018;67(4):929-937. DOI: 10.1111/ppa.12811.
18. Myung I.S., Choi J.K., Wu J.M. et al. Bacterial stripe of hog millet caused by *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*, a new disease in Korea. *Plant Disease*. 2012;96(8):1222-1223. DOI: 10.1094/PDIS-03-12-0320-PDN.
19. NIH. PubChem Compounds CID 24083. Magnesium sulfate. Website of the National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Magnesium-Sulfate>.
20. NIH. PubChem Compounds CID 24450. Dipotassium phosphate. Website of the National Library of Medicine. National Center for Biotechnology Information. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dipotassium-phosphate>.
21. Pandey A.K., Varghese S., Babu A. First report of bacterial leaf blight on tea: an emerging threat to the Indian tea industry. *European Journal of Plant Pathology*. 2024;169:131-136. DOI: 10.1007/s10658-024-02812-5.
22. Pataky J.K., Toit L.J. du, Kerns M.R. Bacterial leaf blight on shrunken-2 sweet corn. *Plant Disease*. 1997;81(11):1293-1298. DOI: 10.1094/PDIS.1997.81.11.1293.
23. Reasoner D.J., Geldreich E.E. A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Applied and Environmental Microbiology*. 1985;49(1):1-7. DOI: 10.1128/aem.49.1.1-7.1985.

24. Saddler G.S. *Acidovorax avenae* subsp. *avenae*. In: IMI Descriptions of Fungi and Bacteria. Wallingford, UK: CAB International. 1994;1211. DOI: 10.1079/DFB/20056401211.
25. Schaad N.W., Song W.Y., Hatziloukas E. PCR primers for detection of plant pathogenic species and species of *Acidovorax*. United States Patent Number 6,146,834. 2000. 5 p.
26. Song W.Y., Sechler A.J., Hatziloukas E. et al. Use of PCR for rapid identification of *Acidovorax avenae* and *A. avenae* subsp. *citrulli*. In: Presentations from the 6th International Conference on *Pseudomonas syringae* and related pathogens (Maratea, Italy, September 15-19, 2002 [ed. by Iacobellis N.S., Collmer A., Hutcheson S.W. et al.]. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers;2003:531-544. DOI: 10.1007/978-94-017-0133-4\_59.
27. Taghipour M., Rahimian H., Babaeizad V. Genetic diversity of *Acidovorax oryzae* in a single site in Mazandaran province, Iran. *Molecular Biology Reports*. 2021;48(4):3885-3888. DOI: 10.1007/s11033-021-06174-7.
28. Vesminsk G.E., Chinea A., Canada A. Causes of the spread and development of sugarcane bacterial red stripe in Cuba (Causas de la propagacion y desarrollo en Cuba de la enfermedad raya roja bacteriana de la cana de azucar). *Ciencias de la Agricultura*. 1978;2:53-64.
29. Vidaver A.K. Synthetic and complex media for the rapid detection of fluorescence of phytopathogenic pseudomonads: effect of the carbon source. *Applied Microbiology*. 1967;15:1523-1524. DOI: 10.1128/am.15.6.1523-1524.1967.
30. Willems A., Goor M., Thielemans S. et al. Transfer of several phytopathogenic *Pseudomonas* species to *Acidovorax* as *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* subsp. nov., comb. nov., *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*, *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*, and *Acidovorax konjaci*. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 1992;42(1):107-119. DOI: 10.1099/00207713-42-1-107.
31. Zhao J.Y., Chen J., Hu Z-T. et al. Genetic and morphological variants of *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* cause red stripe of sugarcane in China. *Frontiers in Plant Science*. 2023;14:1127928. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1127928>.

#### Информация об авторах

А.А. Трошкова – младший научный сотрудник, заместитель начальника научно-методического отдела бактериологии ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений»; аспирант кафедры биотехнологии института агробиотехнологии ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева», anades13@yandex.ru.

А.Б. Яремко – младший научный сотрудник центра коллективного пользования «Молекулярная генетика» ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений», an\_ya94@mail.ru.

А.Н. Игнатов – доктор биологических наук, профессор, профессор Агробиотехнологического департамента, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», an.ignatov@gmail.com.

Е.П. Кононова – агроном лаборатории бактериологии и анализа ГМО Испытательного лабораторного центра ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений», catamont@yandex.ru.

О.Ю. Словарева – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, начальник научно-методического отдела бактериологии ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений»; доцент базовой кафедры фитосанитарной биологии и безопасности экосистем института экологии ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», slovareva.olga@gmail.com.

#### Information about the authors

A.A. Troshkova, Junior Research Scientist, Deputy Head of Scientific and Methodological Department of Bacteriology, All-Russian Plant Quarantine Center; Postgraduate Student, the Dept. of Biotechnology, Institute of Agricultural Technology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, anades13@yandex.ru.

A.B. Iaremko, Junior Research Scientist, Shared Research Facility "Molecular Genetics", All-Russian Plant Quarantine Center, an\_ya94@mail.ru.

A.N. Ignatov, Doctor of Biological Sciences, Full Professor, Professor, Agrobiotechnological Department, People's Friendship University of Russia, an.ignatov@gmail.com.

E.P. Kononova, Agronomist, Bacteriology and GMO Analysis Laboratory, Testing Laboratory Center, All-Russian Plant Quarantine Center, catamont@yandex.ru.

O.Yu. Slovareva, Candidate of Biological Sciences, Senior Research Scientist, Head of the Scientific and Methodological Department of Bacteriology, All-Russian Plant Quarantine Center; Docent, Basic Department of Phytosanitary Biology and Ecosystem Safety, Institute of Ecology, People's Friendship University of Russia, slovareva.olga@gmail.com.

Статья поступила в редакцию 10.11.2025; одобрена после рецензирования 20.01.2026; принята к публикации 26.01.2026.

The article was submitted 10.11.2025; approved after reviewing 20.01.2026; accepted for publication 26.01.2026.

© Трошкова А.А., Яремко А.Б., Игнатов А.Н., Кононова Е.П., Словарева О.Ю., 2026