

УДК: 68.37.31.18.03

## ОЦЕНКА ШТАММОВОГО РАЗНООБРАЗИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ СОСУДИСТОГО БАКТЕРИОЗА КАПУСТЫ

Е.С. МАЗУРИН<sup>1</sup>, А.Н. ИГНАТОВ<sup>2</sup>, Е.В. МАТВЕЕВА<sup>3</sup>, Ф.С. ДЖАЛИЛОВ<sup>4</sup>

(<sup>1</sup> Всероссийский центр карантина растений; <sup>2</sup> Центр «Биоинженерия» РАН;  
<sup>3</sup> ВНИИ фитопатологии РАСХН; <sup>4</sup> лаборатория защиты растений  
РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева)

**Проведена оценка физиологического, генетического и серологического разнообразия штаммов *Xanthomonas campestris pv. campestris*, выделенных в Российской Федерации, и их сравнение со штаммами зарубежного происхождения. Показано существование устойчивых генетических групп штаммов, не связанных с патогенностью и биохимическими свойствами бактерий.**

*Ключевые слова:* болезни капусты, бактериальные болезни растений, сосудистый бактериоз, иммунодиффузия, фингерпринтинг.

Сосудистый бактериоз, вызываемый *Xanthomonas campestris pv. campestris* (Хсс), относится к числу наиболее распространенных и вредоносных заболеваний капустных культур в мире [10, 16]. Основным источником инфекции сосудистого бактериоза являются семена. Достаточно 3~5 зараженных семян на 10 тыс. шт., чтобы вызвать серьезные потери от болезни в поле [12]. Кроме того, штаммы возбудителя обладают высокой генетической изменчивостью. Поэтому особое значение при семенной диагностике должно уделяться не только чувствительности методов, но и использованию критериев (маркеров) различного таксономического уровня. Визуальный метод выявления зараженных растений в фазе рассады неточен вследствие наличия латентной инфекции, и для диагностики патогена наиболее часто используют выделение возбудителя на селективные питательные среды с последующей идентификацией по фенотипическим и физиологическим признакам,

а также подтверждением результата серологическими и молекулярно-генетическими методами. Для оценки корректности использования этих методов необходимы данные о внутривидовой изменчивости патогена по указанным выше признакам. Практически нет данных о сравнительной роли семенной инфекции, зараженных сорных растениях и растительных остатках в развитии эпифитотий в поле. Установление устойчивых физиологических, серологических или генетических групп возбудителя позволило бы провести такие модельные исследования. В то же время оценка внутривидового разнообразия патогена по физиологическим, серологическим и генетическим признакам необходима для выявления наиболее пригодных для практического применения методов диагностики возбудителя, в частности в семенах.

Настоящая работа посвящена определению генетического, серологического и физиологического разнообразия Хсс для усовершенствования

методов диагностики возбудителя сосудистого бактериоза. Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

- определение внутривидовой изменчивости физиологических (биохимических) свойств штаммов бактерий в Российской популяции Хсс и родственных ксантомонад;

- оценка генетического разнообразия методом ПЦР-анализа со случайным праймером и серологического разнообразия методом иммунодиффузии в агаре.

### Материалы и методы

В работе использовали 64 штамма Хсс из коллекций лаборатории защиты растений РГАУ - МСХА имени К.А. Тимирязева и ВНИИ фитопатологии РАСХН. Штаммы выделяли из растений с явными симптомами сосудистого бактериоза ранее описанными методами [2]. Из пораженных растений в Московской обл. было выделено 14 штаммов, в т.ч.: из Серпуховского района — 5, Дмитровского — 8, Коломенского — 1; из г. Москвы — 3. Из пораженных растений в Краснодарском крае были выделены 25 штаммов, в Тульской обл. — 1, Белоруссии — 5. Также были использованы 16 штаммов из Японии, Германии, США и Бразилии, полученные из коллекции ВНИИ фитопатологии РАСХН (табл. 1). В качестве отрицательного контроля в тестах использовали чистые культуры *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* van Hall и *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Davis) Smith.

Морфологические, физиологические и биохимические свойства выделенных бактериальных штаммов изучали общепринятыми микробиологическими методами [11].

Окраску по Граму проводили с использованием стандартной процедуры окрашивания 48-часовой культуры, выросшей на PDA или YDC или методом Рая с использованием 3% KOH.

Тест О/Ф проводили на среде с бромтимоловым синим по методу Хью и Лайфсона. Оксидазу определяли по методу Ковача, каталазу — по методу Дайджи, разжижение желатина — по Фризеру. Разжижение столбика желатина учитывали через 7, 14 и 21 день. Изменение цвета лакмусового молока отмечали также через 7, 14 и 21 день.

Определяли физиолого-биохимические свойства, которые описаны для ксантомонад как наиболее вариабельные. Они включали: продукцию кислоты из Д-галактозы, маннозы, раффинозы, Д-ксилозы, глицерина и альфа-метил-Д-глюкозида, использование L-аспарагина, рост на глицине, L-лейцине, лактате натрия, тартратенатрия, цитрате натрия, малате натрия, сукцинате натрия, оксаладе натрия и поли-бета-оксипутирате, синтез 2-кетоглуконата, синтез восстанавливающих веществ из сахарозы, пектолитическую активность на средах Логана и Патона.

Для постановки сверхчувствительной реакции в листья табака и герани вводили шприцом суспензию бактериальных клеток плотностью  $10^8$  КОЕ/мл. Растения выдерживали при 28~30°C в климатической камере. При наличии патогенности у бактерий через 24-72 ч на месте инфицированной ткани появлялось некротическое пятно.

*Анализ генетического разнообразия бактерий.* Для постановки ПЦР-анализа выделяли ДНК из 2-3-суточной культуры бактерий, полученной на агаризованной среде YDC методом SDS-СТАВ с модификациями [15]. Для подтверждения видовой принадлежности штаммов проводили ПЦР с тремя парами специфичных праймеров 804/1443, RareF1/R1 и P450F/R по рекомендованным протоколам [5, 15].

Для проведения ДНК-фингерпринтинга использовался праймер C-152 (5'-CTGGCGGCTG-3') в реко-

## Происхождение штаммов Хсс, использованных в работе

№	Штамм	Место сбора материала, источник, год	ПЦР анализ*
1	3777	Великобритания, горчица, 1990	+++
2	B-19	США, капуста б/к, 1985	+++
3	2286 (5212)	Великобритания, 1957, типовой штамм Хсс NCPPB528Т	+++
4	1279a	Великобритания, брокколи, 1985	+++
5–9	Dasch 1, 2, 4, 5, 8	Серпуховской район МО, капуста б/к, 2006	+++
10–14	Bel 2, 3, 4, 5, 8	Респ. Беларусь, капуста б/к, 2006	+++
15–17	Hok 1, 2, 3	Краснодарский край, капуста б/к, 2006	+++
18–25	Bun 1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10	Дмитровский район МО, капуста б/к, 2006	+++
26	Хсс 53-4	США, Калифорния, горчица, 2005	+++
27	ex 528	Великобритания, капуста б/к. Мутант по гену ХС2109 штамма NCPPB528Т	+++
28	33436	США, Калифорния, капуста б/к, ATCC33436	+++
29	04-29-81	США, капуста б/к	+++
30	11386	США, Мериленд, горчица, 2005	+++
31	11390	Бразилия, капуста б/к	+++
32	11392	Бразилия, брокколи	+++
33	Хп-13	Япония, Тойота, капуста б/к, 1997	+++
34	P 4110	Германия, капуста б/к, 1999	+++
35	Blu-K	Германия, капуста б/к, 1998	+++
36	Л <sub>1</sub>	Московская обл., Коломенский р-н., капуста б/к	+++
37	Хсс 402	США, Флорида, капуста б/к	+++
38	Т <sub>5</sub>	Тульская обл., капуста б/к, 2001	+++
39	AF2	Москва, межвидовой гибрид капусты, 2001	+++
40	A5	Московская обл., капуста б/к, 2001	+++
41–62	1263-1282 (20 штаммов)	Краснодарский край, капуста б/к, 2006	+++
63	Eruca	США, <i>Eruca sativa</i> , 2005	+++
64	PHW 231	США, Калифорния, капуста б/к	+++
65	S 57	<i>Pseudomonas syringae pv. syringae</i>	---
66	1202	<i>Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis</i>	---

\* Результаты ПЦР-анализа с тремя парами праймеров, специфичных для Хсс — 804/1433, Rare F1/R1 и P450F/R. Плюс — положительная реакция, минус — отрицательная.

мендованном протоколе: начальная денатурация (95°C, 3 мин), 40 циклов, включая денатурацию (94°C, 30 с), отжиг (40°C, 30 с) и элонгацию (72°C, 1 мин). ПЦР-амплификацию проводили в термоциклере GeneAmp PCR System 9700, (Perkin-Elmer, США). Стандартная реакционная смесь содержала 75 мкМ Трис-НСl, рН8,8; 20 мкМ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,01% Твин 20; 200 мкМ каждого dNTP; 20 пМ праймера; 2 мкМ MgCl<sub>2</sub>; 1 единицу Taq ДНК полимеразы и 2 нг целевой ДНК. Окончательный объем смеси составлял 25 мкл.

После окончания реакций около 10 мкл амплифицированных продуктов разделяли в 1,5%-м агарозном геле в буфере TBE с бромистым этидием и документировали при помощи системы UVP (Великобритания). Каждую реакцию проводили дважды для подтверждения ее воспроизводимости. Сходство между штаммами определяли как процент совпадающих ДНК-фрагментов относительно общего числа фрагментов.

Получение антисывороток и серологический анализ. Иммунизацию кроликов проводили суспензия-

ми клеток трех штаммов Хсс: Bel-5, Dasch-2 и Bun-2, выделенных в 2006 г. соответственно в Белоруссии, Серпуховском и Дмитровском районах Московской обл. Полученные антитысыворотки консервировали, добавляя тимерозал (0,2 мг/мл), и хранили при +4°C.

Иммуноглобулины выделяли на хроматографической колонке, заполненной аффинным сорбентом — А-белком *Staphylococcus aureus*, иммобилизованным на сефарозе [3] на базе биотехнологического центра ВНИИ картофельного хозяйства имени А.Г. Лорха\*.

Реакцию двойной иммунодиффузии в агаре проводили общепринятым методом [1]. На 100 мл среды добавляли 0,8 г агара для иммунодиффузии («Serva») и 200 мкл 10% азида натрия. После застывания среды в чашке Петри с помощью специального штампа в слое агара вырезали лунки диаметром 5 мм. В центральную лунку наносили иммуноглобулины, а по периферии антигены. Антиген извлекали путем добавления капли насыщенного раствора фенола к 1 мл плотной бактериальной суспензии ( $10^{10}$  кл/мл) [7]. Через 24-48 ч инкубации при 28°C учитывали проявления реакций полной идентичности, частичной идентичности и неидентичности по сравнению с реакцией иммуноглобулинов с гомологичным штаммом [9]. В качестве отрицательного контроля использовали штаммы Psl398 *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* и Cmml233 *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Характер взаимодействия штаммов оценивали в баллах:

0 — отсутствие реакции; 1 — неидентичность реакции; 2 — частичная идентичность; 3 — полная идентичность. Расстояния между штаммами определяли методом Сити-блок, зарекомендовавшим себя для данных

такого рода в предыдущих исследованиях [4].

Реакцию штаммов Хсс против трех видов иммуноглобулинов и результаты ПЦР-анализа изучали методами кластерного [14] и факторного анализа [13] с помощью пакета STATISTICA 6.0 (StatSoft, США).

## Результаты и их обсуждение

Принадлежность всех вновь выделенных и коллекционных штаммов к Хсс была подтверждена при инокуляции проростков капусты сорта Амагер 611 методом опрыскивания и прищипывания листьев, с получением типичных симптомов сосудистого бактериоза через 10-14 дней, и ПЦР-анализом при использовании Хсс-специфических праймеров 804F/1443R, RareF1/R1 и P450F/R.

*Биохимические свойства.* Штаммы Хсс, выделенные из пораженных растений, собранных в Российской Федерации, были изучены по ряду физиологических признаков и сопоставлены с 60 штаммами рода *Xanthomonas*, включая *X. vesicatoria*, *X. euvesicatoria*, *X. gardneri*, *X. malvacearum*, *X. phaseoli*, *X. vascularum* и *X. arboricola*. Все изученные штаммы Хсс не отличались по родовым морфологическим и физиологическим признакам ксантомонад, синтезировали кислоту из галактозы, маннозы, раффинозы, ксилозы и показали отрицательную реакцию с метилглюкозидом. Штаммы различались по реакции с глицерином — производство кислоты отмечалось в интервале от 3 до 18 дней. Все штаммы использовали натриевую соль лактата, тартрата, цитрата, малата, сукцината и оксалата. Ни один штамм не показал способности расти на глицине или поли-бета-оксибутирате. Точечный рост наблюдался у ряда штаммов на аспарагине и лейцине.

\* Авторы выражают благодарность Ю.А. Варицеву — ведущему научному сотруднику ВНИИКХ имени А.Г. Лорха — за помощь в выделении иммуноглобулинов.

Виды *Xanthomonas* различались по пектолитической активности и формированию редуцированных форм из сахарозы. Штаммы *X. euvesicatoria*, *X. gardneri*, *X. malvacearum*, *X. phaseoli* и *X. vasculorum* были не пектолитическими, тогда как *X. vesicatoria*, *X. arboricola* и Хсс обладали такой активностью. Ни один из штаммов не производил кетоглюконат. Таким образом, нами показано, что сходство физиологических свойств бактерий не позволяет проводить диагностику до уровня вида по изученным признакам.

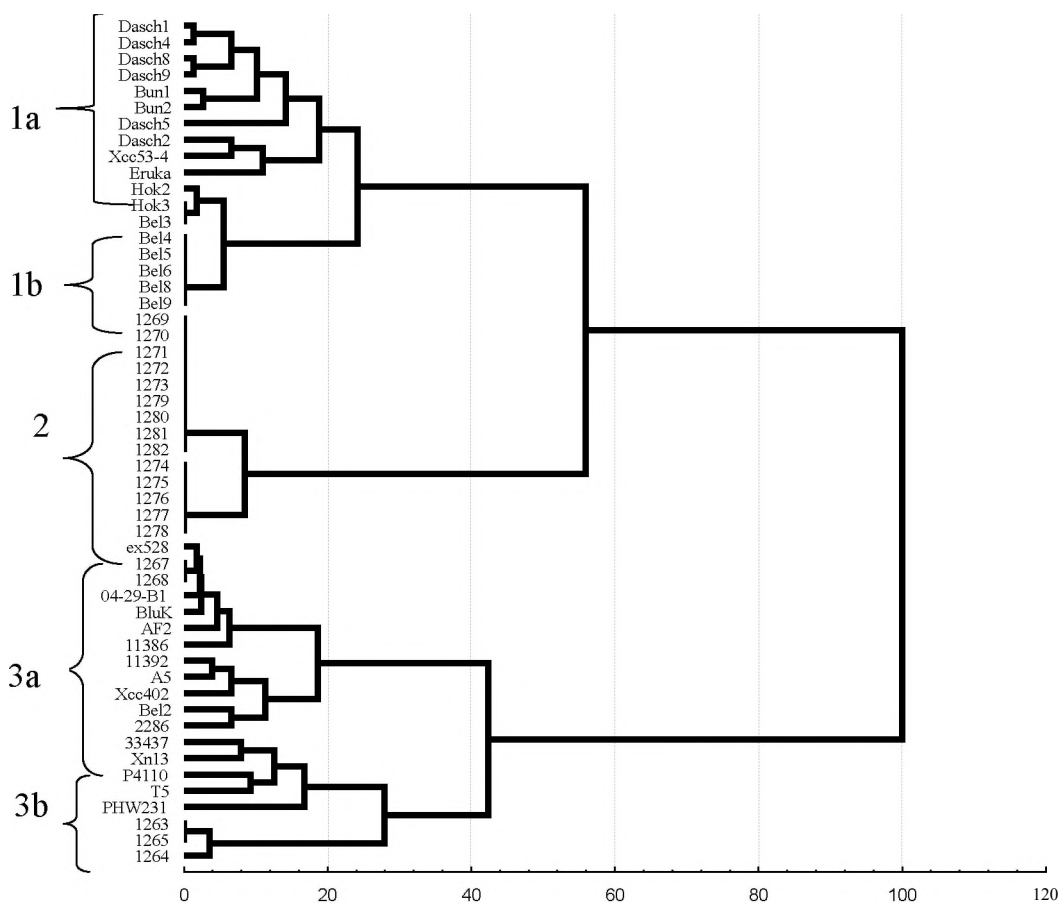
*Молекулярно-генетические свойства.* В результате ПЦР-анализа со случайным праймером С-152 было получено 52 полиморфных фрагмента. С помощью кластерного анализа штаммы были разбиты на 3 группы и 4 подгруппы (1а, 1б, 2, 3а и 3б), отличавшихся по биохимическим свойствам и патогенности (рис. 1). Группа 1 включала подгруппу 1а — 18 штаммов из Московской обл. и штаммы 53-4 и Егуса из дикорастущих капустных, США, и подгруппу 1б — 8 штаммов из Краснодарского края и Белоруссии. Группа 2 включала 14 штаммов из Краснодарского края. Группа 3 также состояла из 2 подгрупп: 3а — штаммы из Краснодарского края, Белоруссии, Великобритании, США и Германии, относящиеся к серотипу 3 [6]. Типовой штамм NCPPB528T (#2286) и мутант расы 6, полученный из типового штамма (ex528) также были отнесены к этой подгруппе. В подгруппу 3б вошли штаммы из Краснодарского края, США, Японии и Германии, относившиеся к серотипу 1. Интересно, что генетически близкий к Российской группе (кластер 1а) штамм 53-4, серологически был объединен со штаммами из культурных капустных, выделенных в США, Японии и Германии. Факторный анализ, проведенный по матрице корреляции между штаммами, показал, что 60% изменчивости определяют первые два

фактора (50% и 10% соответственно). Наиболее контрастными по нагрузкам первых двух факторов были штаммы из Краснодарской популяции патогена — 1282 (нагрузка 0,95) и 1263 (~0,02) по первому фактору, и 1268 (0,87) и 1266 (-0,12) — по второму фактору. Можно предположить, что в условиях, благоприятных для ежегодных эпифитотий сосудистого бактериоза в Краснодарском крае, происходит расширение генетического разнообразия патогена.

*Изменчивость серологических признаков.* Антисыворотки, полученные против бактериальных клеток, представляющих собой смесь антител, реагирующих с основными антигенами микроорганизма, т.е. являются поликлональными. В таком случае реакция сыворотки зависит от двух переменных — состава главных антител и их концентрации, а реакция бактерии — от состава и содержания основных антигенов. Использование нескольких антисывороток против определенного набора штаммов бактерий позволяет, во-первых, классифицировать штаммы по их антигенным свойствам и, во-вторых, сделать выводы об общем числе и составе антител в сыворотках [4]. Реакцию 38 штаммов ксантомад с тремя антисыворотками оценивали по характеру дуг преципитации при диффузии (рис. 2). На рис. 2 показана реакция частичной идентичности штаммов Be1-4 и Bun-2 относительно штамма Dasch-2.

Перед проведением статистического анализа значение реакции было нормализовано относительно суммарной реакции штамма со всеми тремя антисыворотками. Таким образом, оценивали главным образом качественные антигенные различия между штаммами.

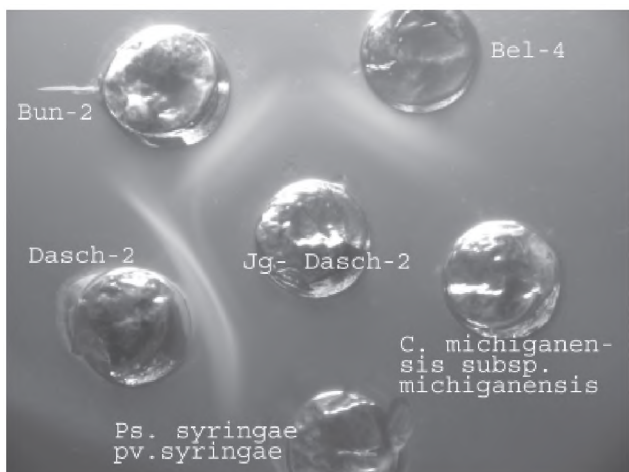
Кластерный анализ, проведенный методом Уарда (Ward's) для расстояний между реакцией штаммов, определенных методом Сити-блок, по-



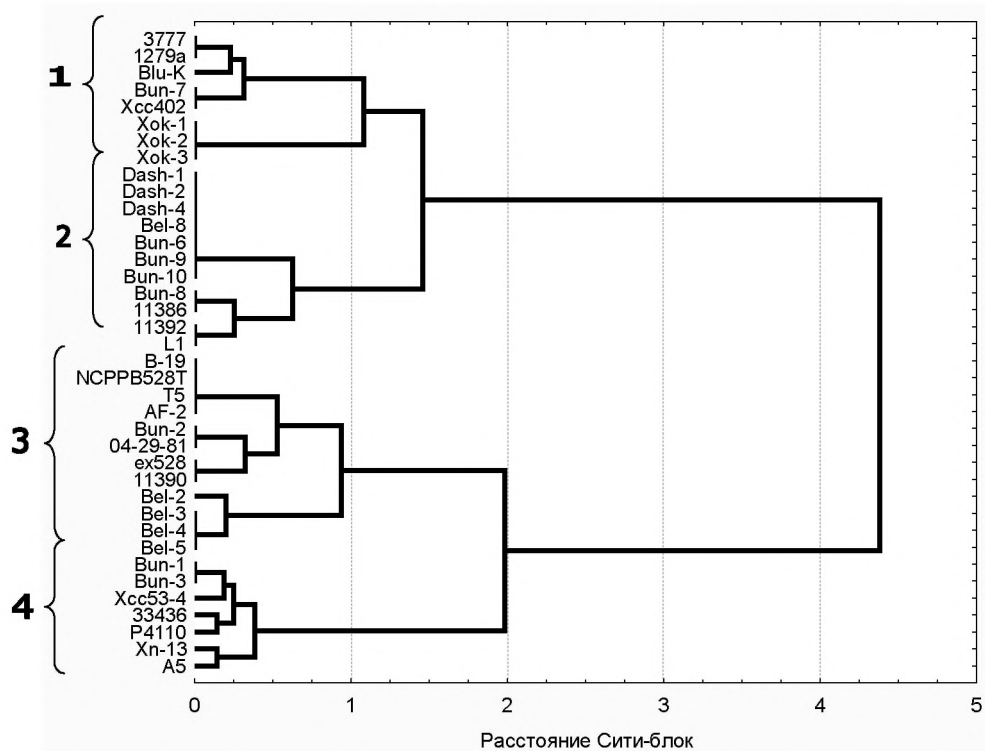
**Рис. 1.** Кластерный анализ методом Уарда (Ward's) генетических расстояний (% совпадения спектра фрагментов), полученных при RAPD-ПЦР-анализе с праймером С-152 для 52 штаммов Хсс. Описание кластеров приведено в тексте

казал наличие четырех групп штаммов (рис. 3). Первая группа включала штаммы из Московской обл. (Bun), Хок, Великобритании (1279a), Германии и США. Вторая группа включала ряд штаммов из Московской обл. (Bun), Белоруссии и США. В третью группу включено большинство штаммов из Белоруссии, а также отдельные из США, Японии и Австралии. Четвертая группа объединяла в большинстве штаммы зарубежного происхождения из Германии, США, Японии и два штамма из Московской обл. (Bun-1 и Bun-3).

При изучении матрицы сходства штаммов по реакции трех антисывороток методом факторного анализа было выявлено действие двух главных факторов, определявших 47 и 34% общей изменчивости реакции штаммов (вместе 81%). Первый фактор достоверно положительно влиял на реакцию антисыворотки против штамма Bun-2 (коэффициент корреляции 0,77) и отрицательно — на реакцию сыворотки против штамма Dasch-2 (-0,87). Второй фактор достоверно коррелировал с реакцией антисыворотки против штамма Bel-5 (0,96).



**Рис. 2.** Реакция двойной иммунодиффузии в агаре. В центре антисыворотка, полученная против штамма Dasch 2. В периферических лунках — антигены штаммов Xcc: Dasch 2, Bel-4, Bun-2 и отрицательные контроли — штамм 1202 *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* и штамм S 57 *Pseudomonas syringae pv. syringae*

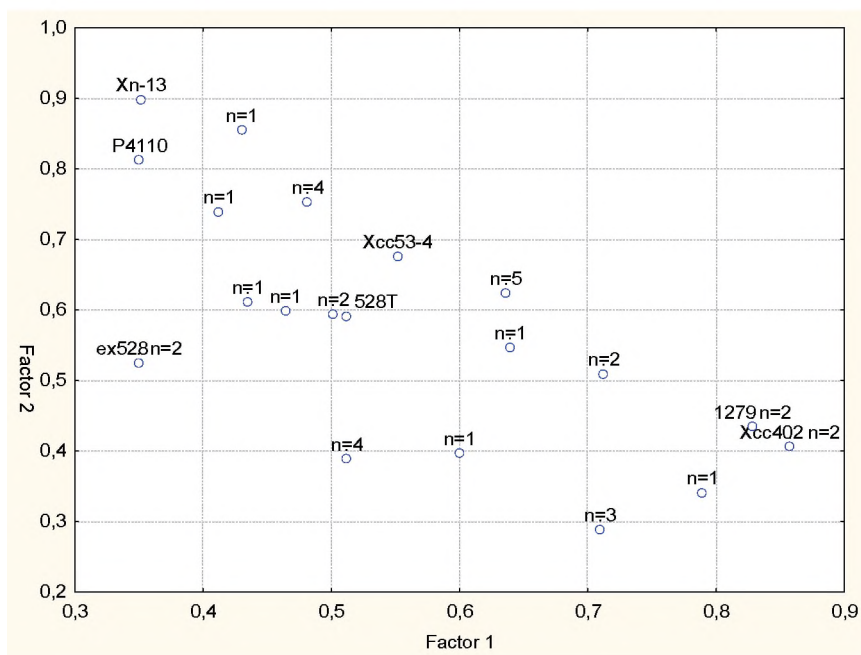


**Рис. 3.** Группировка штаммов Xcc методом Уарда (Ward's) по степени серологической близости (расстояние Сити-блок для нормализованной оценки) против трех поликлональных антисывороток

Как известно, липополисахарид (ЛПС) массой около 67-68 кДа является основным антигеном Хсс [4]. Основные серотипы 1 и 3 Хсс [4, 6] имеют контрастную структуру ЛПС, что выражается в отрицательной корреляции между реакциями сывороток, полученных против этого антигена у разных серотипов. Но в данном случае наибольшее различие между типовыми штаммами, принадлежавшими к серотипу 1 (Хп-13) и серотипу 3 (NCPPB528Т) и вошедшими соответственно в кластеры 3 и 4, наблюдалось по второму фактору — реакции антисыворотки Ve1-5 (рис. 4). Очевидно, что ряд штаммов различного происхождения (кластеры 1 и 2) оказываются более удаленными от серотипов 1 и 3 и показывают еще большее серологическое разнообразие в популяции патогена, чем было выявлено ранее [4, 6].

Поликлональные антитела дают совокупность количественно меняющихся реакций многих антител с соответствующими антигенами бактерии. Поэтому реакция с отдельной сывороткой не может достоверно определить видовой статус бактерии, и для диагностических целей серологический анализ должен быть применен в виде сравнительной реакции типовых и исследуемых бактерий против набора нескольких (в нашем случае не менее трех) сывороток.

Интересно, что в целом не наблюдалось достоверной корреляции между серологической и генетической группировкой штаммов, хотя некоторые из них показывали близкие генетические и серологические свойства: 04-29-В1 и NCPPB528Т, ATCC33436 и Хп-13 и, видимо, принадлежали к одним и тем же клональным группам.



**Рис. 4.** Расположение штаммов Хсс в пространстве двух факторов, определяющих 81% изменчивости реакции трех антисывороток (n — число штаммов). Приведены названия типовых штаммов Хсс для серотипов 1 и 3, остальные штаммы представлены без названия



Молекулярно-генетический анализ (ПЦР-фингерпринтинг) отличается большей информативностью и позволяет дифференцировать как различные виды ксантомонад, так и группы внутри одного вида [6, 8, 15]. Набор фрагментов ДНК, получаемых при ПЦР-фингерпринтинге, является качественной характеристикой исследуемых бактерий и состоит из видо-, группоспецифичных и уникальных для каждого штамма фрагментов, которые могут быть переведены в специфичные молекулярные маркеры соответствующего таксономического уровня.

Очевидно, что при высоком внутривидовом генетическом и серологическом разнообразии популяции возбудителя сосудистого бактериоза, впервые выявленном для России, диагностика патогена должна основываться на всех доступных методах исследований.

## Выводы

1. При изучении внутривидовой изменчивости физиологических (биохимических) свойств штаммов бактерий в Российской популяции Хсс и родственных ксантомонад не было выявлено физиологических признаков, достоверно различающих штаммы Хсс от близких видов ксантомонад, способных выживать на поверхности капустных растений в эпифитном состоянии.

2. Оценка генетического разнообразия методом ПЦР-фингерпринтинга с праймером С-152 показала высокое генетическое разнообразие изученных штаммов, связанное с их географическим происхождением.

3. При проведении практической диагностики необходимо иметь в виду, что российские штаммы патогена принадлежат как к основным серотипам 1 и 3, так и к новым серологическим группам.

Работа выполнена при частичной поддержке проекта МНТЦ 3431.

## Библиографический список

1. Воробьева Н.В. Иммунодиффузия и иммуноэлектрофорез. М.: Научный мир, 2006.
2. Джалилов Ф.С. Методы изучения бактериальных болезней растений / Методические указания для научно-исследовательской работы студентов). М.: МСХА, 1989.
3. Егоров А.М., Осипов А.П., Дзантиев Б.Б., Гаврилова Е.М. Теория и практика иммуноферментного анализа. М.: Высшая школа, 1991.
4. Игнатов А.Н., Поляков К.Л., Самохвалов А.Н. Количественный анализ серологических признаков *Xanthomonas campestris* // Сельскохозяйственная биология, 1998. № 1. С. 106-115.
5. Лунина Н.В., Игнатов А.Н., Зотов В.С., Мамеева Е.В., Шаад Н. Генетическое разнообразие фитопатогенных бактерий *Xanthomonas campestris* // Вычислительная филогенетика и геносистематика «ВФГС 2007». М.: МГУ, 16-19 ноября. С. 260-266.
6. Alvarez A.M., Benedict A.A., Mizumoto C.Y., Hunter J. E., and Gabriel D.W. Serological, pathological, and genetic diversity among strains of *Xanthomonas campestris* infecting crucifers // *Phytopathology*, 1994. V. 84. P. 1449-1457.
7. De Boer S.N., Coperman R.I., Vrugink H. Serogroups of *Erwinia carotovora* potato strains determined with diffusible somatic antigens // *Phytopathology*, 1979. V. 69. №4. P. 316-319.
8. Ignatov A., Sechler A., Schuenzel E.L., Agarkova I., Oliver B., Vidaver A.K., Schaad N.W. Genetic Diversity in Populations of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in Cruciferous Weeds in Central Coastal California // *Phytopathology*, 2007. V. 97. P. 803-812.

9. *Kleihempel H., Naumann K., Spaar D.* Bakterielle Erkrankungen der Kulturpflanzen. Jena: Gustav Fischer Verl, 1989.
10. *Kohl J., Wolf J.* *Alternaria brassicicola* and *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in organic seed production of Brassicae: Epidemiology and seed infection. Plant Research International. Wageningen, September 2005.
11. Laboratory guide for identification of plant-pathogenic bacteria / *Schaad N.W., Jones J.B., Chun W.* eds. 3rd ed. American Phytopathological Society Press. St. Paul, Mn, 2001.
12. *Schaad N.W., Sitterly W.R., Humaydan H.* Relationship of incidence of seed-borne *Xanthomonas campestris* to black rot of crucifers // *Plant Disease*, 1980. V. 64. № 1. P. 91-92.
13. *Thurstone L.L.* Multiple factor analysis // *Psychological Review*, 1931. V.38. P. 406-427.
14. *Tryon R.C.* Cluster Analysis. Ann Arbor, MI: Edwards Brothers, 1939.
15. *Tsygankova S.V., Ignatov A.N., Boulygina E.S., Kuznetsov B.B., Korotkov E.V.* 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.
16. *Williams P.H.* Black rot: a continuing threat to world crucifers // *Plant Disease*, 1980. V. 64. № 8. P. 736-742.

*Рецензент* — д. б. н. А.А. Соловьев

#### SUMMARY

Physiologic, genetic, and serologic diversity in russian population of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* was compared with reference strains isolated world-wide. Genetic and serologic properties of the pathogen were not linked to pathogenicity or biochemical properties.

*Key words:* cabbage diseases, bacterial diseases of crops, black rot, immune diffusion.

**Мазурин Евгений Сергеевич** — к. б. н. Тел. (499) 271-38-24.

Эл. почта: zarauh@mail.ru

**Игнатов Александр Николаевич** — д. б. н. Тел. (499) 135-73-19.

Эл. почта: alexandre77@hotmail.com

**Матвеева Евгения Владимировна** — к. б. н. Тел. (498) 684-09-04.

**Джалилов Февзи Сеид-Умерович** — д. б. н. Тел. 976-12-79.

Эл. почта: labzara@mail.ru