

# 柑橘溃疡病菌分化及防治研究进展

姚廷山, 周彦, 周常勇\*

(西南大学柑橘研究所, 国家柑橘工程技术研究中心, 重庆 400712)

**摘要:** 对柑橘溃疡病菌 (*Xanthomonas citri* subsp. *citri*, Xcc) 的分类地位、菌系分化和致病机理进行了总结, 重点阐述了运用生物学、血清学和分子生物学方法鉴定溃疡病菌遗传变异的研究进展, 并介绍了该病的防治方法。

**关键词:** 柑橘溃疡病; 菌系分化

**中图分类号:** S 666

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2015) 09-1699-08

## Research Development of the Differentiation and Control of Citrus Bacterial Canker Disease

YAO Ting-shan, ZHOU Yan, and ZHOU Chang-yong\*

(Citrus Research Institute, Southwest University, National Engineering Research Center for Citrus, Chongqing 400712, China)

**Abstract:** Citrus canker caused by *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Xcc) is one of the most bacterial disease of citrus. In this paper, the taxonomic status of citrus canker bacteria, fungi and pathogenic mechanism of differentiation were summarized. Focusing on the research progress in the use of biological, serological and molecular methods to identify genetic variation canker, and introduced the disease control methods.

**Key words:** citrus canker disease; differentiation

柑橘是世界第一大果品 (邓秀新, 2005)。近年来中国柑橘产业发展迅速, 栽培面积和年产量已超过美国和巴西, 成为世界第一大柑橘生产国。在影响柑橘生产可持续发展的诸多因素中, 检疫性病虫害是一个极其重要的制约因素。其中, 由柑橘溃疡病菌 (*Xanthomonas citri* subsp. *citri*) 引起的柑橘溃疡病, 因其菌系分化复杂、发病率高、传播快、寄主范围广, 被认为是世界柑橘生产的重要检疫性病害。目前中国各主要柑橘产区几乎皆有柑橘溃疡病发生, 对柑橘尤其是橙类产业造成了严重损失。由于柑橘溃疡病疫区长期使用单一铜制剂类型农药, 造成抗药性日趋严重 (Behlau et al., 2011), 因此通过转基因技术提高植株抗性, 或者寻找新的微生物源和植物源制剂对今后溃疡病的防治显得尤为重要。

本文中对柑橘溃疡病菌起源、菌系分化, 以及防治研究进展作一综述, 旨在为更好地防治柑橘溃疡病提供借鉴。

**收稿日期:** 2015-06-08; **修回日期:** 2015-09-06

**基金项目:** 基金项目农业部行业公益项 (201003067); 教育部西南大学项目 (XDJK2013C104)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zhoucey@cric.cn)

## 1 柑橘溃疡病的分布及病原命名

柑橘溃疡病起源于东南亚或印度 (Fawcett & Jenkins, 1933; Civerolo, 1984), 随后扩散到南非、中东、澳大利亚等国和地区 (Gottwald, 2001, 2002), 并逐渐迁移至世界各柑橘生产国。中国的柑橘溃疡病最早发现于华南地区, 随后全国各主要柑橘产区均有报道, 其中以华南地区发生最为严重。早期柑橘溃疡病常与柑橘疮痂病相混淆, 到 1915 年才将其确定作为一种新的细菌性柑橘病害。早期对柑橘溃疡病病原菌的命名较为混乱, 直至《伯杰氏细菌鉴定手册》第八版将其正式命名为 *Xanthomonas campestris* pv. *citri*。随后根据分子指纹和 DNA-DNA 杂交分析的结果, 将其更名为 *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* (Vauterin et al., 1995)。近年来, 根据 16S RNA 基因序列差异, 将其定名为 *Xanthomonas citri* subsp. *citri* (Schaad et al., 2006)。

## 2 菌系分化

### 2.1 寄主专化性

根据地理分布和对寄主植物的致病性的差异将柑橘溃疡病菌分为 A、B、C、D、E 等 5 个菌系。其中致病力最强的亚洲菌系为 A 菌系, 可侵染柑橘属所有植株; B 菌系发现于南美洲, 为害柠檬和墨西哥莱檬; C 菌系发现于巴西, 主要侵染墨西哥莱檬和酸橙; D 菌系发现于墨西哥, 主要侵染墨西哥莱檬; E 菌系发现于美国佛罗里达州苗圃。该分类方法纠正了之前从新寄主上分离出 *Xanthomonas* 属病原就定为新种的乱象。对来自伊朗和韩国 43 个柑橘溃疡病菌株进行 AFLP 分析结果显示, 虽然 B 菌系和 D 菌系内不存在显著的地域差异, 但 A 菌系和 C 菌系中的菌株变异受地理差异的影响较大 (Khodakaramian & Swings, 2011)。

### 2.2 血清学分化

早期研究显示, 柑橘溃疡病菌的 5 个不同菌系 A、B、C、D、E 间存在血清学的差异。随后还制备了 3 种可分别特异性识别 A、B 和 C 菌系的单克隆抗体 (Alvarez et al., 1991)。

### 2.3 分子变异

已经明确了 A、B、C 菌系间具有很多不同的基因差异。近年来的研究显示, 细菌Ⅲ型分泌系统 (T3SS) *hrpB4*、*hrpX* 基因以及未在植物致病性中报道的 *htrA* 基因显示不同溃疡病菌菌系的致病力差异, 表明和溃疡病菌的毒性有关, 可解释 A 菌系的毒性比 B、C 菌系高, 根据这些基因的差异可区分不同的菌系 (Laia et al., 2009)。运用 rep-PCR 分析, 引物对  $Ms^+/Ms^-$  可有效区分 A 菌系和 A\* 菌系 (Fatemeh et al., 2014), 环介导等温扩增技术可将 E 菌系与 A、B/C/D 菌系分开 (Rigano et al., 2010)。

## 3 种内分化

### 3.1 16S rRNA 差异

柑橘溃疡病菌不仅被分为了多个菌系, 还存在复杂的种内分化, 以及种下阶元现象。

根据 16S rRNA 基因序列的差异, 将柑橘溃疡病菌分为了柑橘黄单胞柑橘亚种 (*X. citri* subsp. *citri*, Xcc)、棕色黄单胞莱檬亚种 (*X. fuscans* subsp. *aurantifolii*, Xfa) 和苜蓿黄单胞枳柚亚种 (*X. alfalfae* subsp. *citrumelonis*, Xac) 等 3 个亚种 (Schaad et al., 2006)。其中柑橘黄单胞柑橘亚种为原 A 菌系和地毯黄单胞柑橘亚种 (*X. axonopodis* pv. *citri*), 是中国柑橘溃疡病菌的主要类型。柑橘黄单胞柑橘亚种也包括 A<sup>\*</sup> 和 A<sup>w</sup> 两个变种。其中 A<sup>\*</sup> 变种发现于亚洲西南部的阿曼、沙特阿拉伯、伊朗和印度, 仅能为害莱檬。A<sup>w</sup> 变种分布于美国惠灵顿、佛罗里达南部, 侵染柠檬和莱檬, 不侵染葡萄柚 (Verniere et al., 1998)。

### 3.2 细菌Ⅲ型分泌系统 (T3SS)

T3SS 是重要的蛋白运输机制, 与柑橘溃疡病菌的寄主范围和致病性密切相关。T3SS 介导了 XccA<sup>w</sup> 对莱檬的致病性, 并影响 A<sup>\*</sup> 的寄主范围 (Rybak et al., 2009)。此外, 虽然 Xcc 和 Xfa 都含有 T3SS, 但所含 T3SS 的数量存在差异, 其中 XccA、XccA<sup>w</sup> 分别包含 24 和 30 个 T3SS 效应子, 而 Xfa 含有 26~27 个 T3SS 效应子 (Moreira et al., 2010; Jalan et al., 2013)。运用根据 *avrXacE1*、*avrXacE2*、*avrXacE3*、*avrXacBs2*、*pthA4*、*hpaF* 及亮氨酸富集蛋白 (XAC3090) 基因设计的引物探针, 对巴西 157 个菌株进行 Southern 杂交、Box-PCR、Eric-PCR 分析表明, *pthA4* 等表现丰富的多态性 (Jacian et al., 2009)。

### 3.3 分子标记分析

Li 等 (2007) 应用了 IES (insertion event scanning) 方法对各国柑橘溃疡病蜡叶标本进行地理分布及基因多样性分析, 证明了佛罗里达州 1911 年溃疡病爆发的来源。*PthA* 基因的多样性分析表明, 柑橘溃疡病菌含有 1~4 个 *PthA* 拷贝, A 菌系有超过 3 个, B/C、A<sup>\*</sup>、A<sup>w</sup> 根据菌系不同含有 1~3 个 *PthA* 拷贝 (Lee et al., 2008)。Buithingoc 等 (2009) 利用 SSR 标记技术对 25 个国家 239 株柑橘溃疡病菌的分析结果显示, 选取的 14 个基因座中大多数都具有很高的遗传多样性。Ngoc 等 (2009) 基于 AFLP 片段多态性的基因进化分枝分析表明, A<sup>\*</sup> 菌系 (包括 A<sup>w</sup>) 比 A 菌系有更高的分子遗传多样性。Rezaei 等 (2012) 对采自伊朗的 25 个菌株进行表型及基因组学评估, 根据寄主范围测定可分为两个组群, 第一组群可侵染多种柑橘, 但第二组群只侵染墨西哥莱檬, 运用 rep-PCR 及 RAPD 分析表明遗传多样性丰富, 其中来自 Sistan-va-Baluchestan 的菌株差异最大, 可能与其它菌株的起源不同。在中国, Ye 等 (2013) 首次采用基于 *tale* 基因的 Southern 杂交的方法对南方 9 个柑橘种植省份的柑橘溃疡病菌进行遗传多样性分析, 表明可将病菌分为 A~N 共 14 种不同种类的致病型, 其对不同品种柑橘的致病性有所不同。Arshadi 等 (2013) 对马来西亚 25 株柑橘溃疡病菌进行 rep-PCR 分析, 结果表明柑橘溃疡病菌具有丰富的遗传多样性, 聚类分析与地理起源相关, 但与它们的寄主种类无关。

### 3.4 生物膜差异

生物膜由多糖、蛋白和核酸组成, 在细菌的吸附和保护上起着非常重要的作用, 其与溃疡病菌株的致病力密切相关 (Malamud et al., 2010; Moreira et al., 2010; Huang et al., 2013)。在外界胁迫下 A<sup>w</sup> 和 A<sup>\*</sup> 变种生物膜产生的应答反应存在显著差异 (Sena-Vélez et al., 2014)。

## 4 致病机理

### 4.1 致病过程

致病性基因 *pthA*、*hrp* 等编码无毒蛋白 Avr, 无毒蛋白在病原菌中表达, T3SS 伴侣蛋白 HpaB 与 Avr 的 N' 端 1 ~ 50 个氨基酸相结合, 通过 T3SS 促进它的分泌, Avr 蛋白被转移到柑橘细胞中并发生二聚化。宿主细胞内的内协助因子 Importin $\alpha$  与 Avr 的核定位信号 (NLSs) 特异性互作, 之后与 Importin  $\beta$  一起使 *PthA* 进入细胞核, 调节运转到细胞核中, 修饰寄主细胞的转录组, 导致增生症状或 HR 反应 (Yang et al., 1996; 胡春华 等, 2008)。柑橘溃疡病菌的致病性主要通过 T3SS 和 Avr 编码蛋白实现 (Gürlebeck et al., 2006)。

### 4.2 致病相关基因

研究显示, 柑橘溃疡病菌可通过寄主糖蛋白 (glycoprotein) 特异凝集因子来感染柑橘。在溃疡病菌编码的致病相关基因中, *avr* (avirulence)、*rpf* (regulation of pathogenicity factor) 和 *hrp* (hypersensitive response, pathogenicity) 等基因家族的研究较深入。

**avr 基因家族:** *avr* 家族在寄主—病原物的互作中具有双重功能, 即在抗性寄主上引起 HR 反应, 在感病寄主上加重症状的表现 (Dunger et al., 2007)。无毒基因 *avrGf2* 已被确定是 C 菌系在葡萄柚上产生过敏反应的原因, 虽然 *avrGf2* 转化结合子相对于 *avrGf1* 而言可更快诱导过敏反应更低的群体, 但 A 菌系侵入葡萄柚叶片后, 其 *avrGf1* 或 *avrGf2* 的表达可造成相同的表型。试验表明 B 菌系中都包含 1 个 *avrGf2* 转座子, 这可能导致 B 菌系与 C 菌系的寄主范围的差异 (Gochez et al., 2015)。

**rpf 基因家族:** 目前已发现 *pthA*、*pthB*、*pthC* 等 10 余种 *rpf* 基因, 此类基因都具有核定位信号区 (NLSs)。通过对 NLSs 序列进行定点突变, 可使 *Pth* 失去致病能力 (Elizabete et al., 2008)。*rpf* 基因通过调控 *opsX*、*gumB*、*gumD* 和 *galU* 基因, 从而影响蛋白酶、葡聚糖内切酶、聚半乳糖醛酸连接酶、胞外多糖等致病相关因子的产生。目前尚未在柑橘溃疡病菌中发现黄单胞菌 *rpf* 基因家族中特有的 *rpfH* 和 *rpfI* 基因 (da Silva et al., 2002)。

**hrp 基因家族:** *hrp* 基因家族主要编码 T3SS 蛋白, 并在植物宿主细胞中释放效应蛋白。将 *hrp* 基因簇中的 *hrpX* 和 *hrpG* 基因进行突变后, 柑橘溃疡病菌将丧失感染柑橘的能力 (Guo et al., 2010)。此外, T3SS 中还有 4 种高度保守的 *PthA* 基因 (Cubero & Graham, 2004), 在非致病性黄单胞杆菌内插入 *pthA* 基因后, 可在柑橘上产生典型的溃疡病症状 (Swarup et al., 1991)。虽然各 *pth* 基因很相近, 但是每个基因都有一个独特的重复中央区域, Xcc306 菌株含有 4 个 TAL 效应子基因, *pth4* 对柑橘溃疡病病斑的形成有一定作用 (Yan & Wang., 2012)。可结合对寄主应答 Xcc 侵染 TAL 效应因子含量变化的转录分析、TAL 效应结合元件 (EBE) 预测和 TAL 效应因子设计来确定柑橘的感病 (S) 基因 (Hu et al., 2014)。*hrp* 基因的转录表达在植物中诱导并且受 *hrpG* 和 *hrpX* 调节 (Alegria et al., 2004; Guo et al., 2011)。

除了上述基因家族外, *opsX*、*pgi*、*rfgp*、*gum* 等毒性基因也参与了柑橘溃疡病菌的致病过程 (Burnings & Gabriel, 2003)。其中, 敲除 *galU*、*colR*、*colS* 等基因, 都可导致 Xcc 在葡萄柚上不表现症状 (Guo et al., 2010; Yan & Wang, 2011)。脂多糖 (LPS) 生物合成基因 *wxacO* 和 *rfbC* 的突变可引起 Xcc 在葡萄柚上的移动性、抗逆性及毒性的下降 (Li & Wang, 2011)。Tn5 转座子介导的诱变筛选是创建突变体的一种非常有效的方法, 已被用于黄单胞成员的潜在毒性相关基因的高效

筛选 (Wang et al., 2008; Laia et al., 2009; Rott et al., 2011)。通过对 Xcc306 菌株包含的近 22 000 种突变体在葡萄柚上致病缺陷突变体的筛查, 确定了 82 个基因与 Xcc 引起的柑橘溃疡病症状相关, 其中 23 个基因被归类为重要基因类群, 其余被归类为假定毒性相关基因类群 (Yan & Wang, 2012)。此外, 柑橘溃疡病菌编码的 *XadA* 外膜蛋白、粘附素蛋白等都在柑橘溃疡病菌的致病过程中起重要作用 (da Silva et al., 2002; Salzberg et al., 2008)。

## 5 柑橘溃疡病的防治

### 5.1 栽培管理与化学防治

冬季清园、修剪枝梢、清除病枝, 可减少初侵染源, 同时增加植株抗性。另外将柚类和温州蜜柑两种品种混栽, 树冠达到一定比值可有效控制溃疡病的发生。药剂有以下两类: (1) 铜制剂, 包括 30% 氢氧化铜悬浮剂、1.5% 噻霉酮水乳剂、27.12% 碱式硫酸铜悬浮剂等; (2) 链霉素类, 包括 2% 春雷霉素水剂、70% 农用链霉素可溶性粉剂等。在进行药剂防治时需考虑品种的敏感性差异, 高抗和中抗柑橘品种可选用铜制剂防治, 对溃疡病敏感的柑橘品种, 在药剂防治的同时辅以栽培管理。

### 5.2 生物防治与抗病育种

国外已禁止或限制了许多高毒高残留化学农药使用, 由于化学药剂的残留及抗药性问题, “环境和谐型农药” 已成为农药发展的必然趋势。目前从杂草、林木、果树、蔬菜等植物源中获得的多重提取物均表现出对柑橘溃疡病菌具有较好的抑菌效果 (Csizinszky et al., 1993; Akhtar et al., 1997)。通过使用榨蚕抗菌肽和枯草芽孢杆菌 CQBS03 等辅助方法, 也可降低杀菌剂的使用次数和用量 (Romero et al., 2001)。此外, 近年来筛选出的噬菌体和欧文氏菌也具有防治柑橘溃疡病的潜力。

目前利用转基因技术培育抗柑橘溃疡病优良品种也是研究热点之一。20 世纪末中国获得了转榨蚕抗菌肽 D 基因抗性锦橙新会橙和脐橙株系 (陈善春 等, 1996)。随后获得的表达外源基因 *NLS*、*chit42*、*Xa21* 以及 *PthA* 的冰糖橙、椪柑和甜橙也对柑橘溃疡病具有一定的抗性 (胡春华 等, 2008; Mendes et al., 2010; Yang et al., 2011)。研究表明, N - 酰基高丝氨酸内酯 (AHLs) 作为信号分子介导的细菌群体感应系统参与诸多病原菌的致病过程 (Withers et al., 2001)。将源于细菌的 AHLs 水解酶基因转入植物, 可提高植株对溃疡病的抗性 (Fuqua et al., 2011)。近年来采用基因敲除技术发现, 溃疡病菌中 *tale* 基因编码的串联重复单元 12 和 13 位氨基酸与植物启动子结合可激活植株相应的抗感反应, 这为今后溃疡病抗病育种提供了新思路。

迄今尚未发现能彻底防治柑橘溃疡病的药剂和方法。美国、巴西等及中国丘陵山区仍然主要采取挖除病树、集中烧毁的措施。运用传统检验与现行的分子检测手段相结合的方法, 执行严格的检疫制度可防止柑橘溃疡病菌的扩散。在无法彻底清除病树的地区, 可适时使用化学农药, 建立防风林, 以及防治潜叶蛾等措施。目前对柑橘溃疡病的研究还主要侧重于菌系分化和遗传多样性, 对于致病深层机理的研究还不完善, 明确各致病因子与病害发生的准确关系, 为抗病育种提供丰富的基因信息, 有利于开发全新的病害控制策略。

## References

- Akhtar M A, Rahber-Bhath M H, Aslam M. 1997. Antibacterial activity of plant diffusate against *Xanthomonas campestris* pv. *citri*. International Journal of Pest Management, 43 (2): 149 – 153.

- Alvarez A M, Benedict A A, Mizumoto C Y, Pollard L W, Civerolo E L. 1991. Analysis of *Xanthomonas campestris* pv. *citri* and *X. c. citrumelo* with monoclonal antibodies. *Phytopathology*, 81: 857 – 865.
- Arshadi F, Sijam K, Awang Y B. 2013. Genetic diversity of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* causal agent of citrus canker. *Journal of Plant Protection Research*, 53 (4): 312 – 316.
- Behlau F, Canteros B L, Minsavage G V, Jones J B, Graham J H. 2011. Molecular characterization of copper resistance genes from *Xanthomonas citri* subsp. *citri* and *Xanthomonas alfalfa* subsp. *citrumelonis*. *Appl Environ Microbiol*, 77: 4089 – 4096.
- Buithingoc L, Verniere C, Vital K, Guerin F, Gagnevin L, Brisse S, You A H, Pruvost O. 2009. Development of 14 minisatellite markers for the citrus canker bacterium, *Xanthomonas citri* pv. *citri*. *Molecular Ecology Resource*, 9: 125 – 127.
- Chen Shan-chun, Zhang Jin-ren, Huang Zi-ran, Gao Feng, Chen Feng-zhen, He Han-sheng. 1996. Citrus gene engineering for resistance to bacterial canker disease mediated by synthetic antibacterial peptide D gene of Chinese oak silkworm. *Scientia Agricultura Sinica*, 29: 94. (in Chinese)
- 陈善春, 张进仁, 黄自然, 高峰, 陈凤珍, 何汉生. 1996. 抗菌肽基因介导的柑橘溃疡病基因工程研究. *中国农业科学*, 29: 94.
- Civerolo E L. 1984. Bacterial canker disease of citrus. *Journal of the Rio Grande Valley Horticultural Society*, 37: 127 – 146.
- Csizinszky A A, Civerolo E L, Jones J B. 1993. Inactivation of *Xanthomonas campestris* pv. *in vitro* with plant extracts. *Acta Horticulturariae*, 331: 301 – 305.
- Cubero J, Graham J H. 2004. The leucine-responsive regulatory protein (*lrp*) gene for characterization of the relationship among *Xanthomonas* species. *Int J Syst Evol Microbiol*, 54: 429 – 437.
- da Silva A C, Ferro J A, Reinach F C, Farah C S, Furlan L R, Quaggio R B, Monteiro-Vitorello C B, Van Sluys M A, Almeida N F, Alves L M C, Amaral A M, Bertolini M C, Camargo L E A, Camarotte G, Cannavan F, Cardozo J, Chambergro F, Ciapina L P, Cicarelli R M B, Coutinho L L, Cursino-Santos J R, El-Dorri H, Faria J B, Ferreira A J S, Ferreira R C C, Ferro M I T, Formighieri E F, Franco M C, Franco M C, Greggio C C, Gruber A, Katsuyama A M, Kishi L T, Leite R P, Lemos E G M, Lemos M V F, Locali E C, Machado M A, Madeira A M B N, Martinez-Rossi N M, Martins E C, Meidanis J, Menck C F M, Miyaki C Y, Moon D H, Moreira L M, Novo M T M, Okura V K, Oliveira M C, Oliverira V R, Pereira H A, Rossi A, Sena J A D, Silva C, de Souza R F, Spinola L A F, Takita M A, Tamura R E, Teixeira E C, Tezza R I D, Trindade dos Santos M, Truffi D, Tsai S M, White F F, Setubal J C, Kitajima J P. 2002. Comparison of the genomes of two *Xanthomonas* pathogens with differing host specificities. *Nature*, 417: 459 – 463.
- Deng Xiu-xin. 2005. Advances in worldwide citrus breeding. *Acta Horticulturariae Sinica*, 32 (6): 1140 – 1146. (in Chinese)
- 邓秀新. 2005. 世界柑橘品种改良的进展. *园艺学报*, 32 (6): 1140 – 1146.
- Dunger G, Relling V M, Tondo M L, Barrera M, Ielpi L, Orellano E G, Ottado J. 2007. *Xanthan* is not essential for pathogenicity in citrus canker but contributes to *Xanthomonas* epiphytic survival. *Arch Microbiol*, 188: 127 – 135.
- Elizabete S, Candido J L, Quirino P. 2008. *Xanthomonas gardneri* exoenzymatic activity towards plant tissue. *World J Microbiol Biotechnol*, 24: 163 – 170.
- Fatemeh Yousefi Koupaei, S. Mohsen Taghavi, Hiroshi Shiotani, Shinji Tsuyumu. 2014. PCR-based assay for differentiating A<sup>+</sup> and A<sup>-</sup>-type strains of *Xanthomonas citri* subsp. *citri*, the causal agent of Asiatic citrus canker. *Plant Pathol*, 82: 85 – 89.
- Fawcett H S, Jenkins A E. 1933. Records of citrus canker from herbarium specimens of the genus citrus in England and the United States. *Phytopathology*, 23: 820 – 824.
- Fuqua W C, Winans S C, Greenberg E P. 2001. Quorum sensing in bacteria: The LuxR-LuxI family of cell density-responsive transcriptional regulators. *Annu Rev Genet*, 35: 439 – 468.
- Gochez A M, Minsavage G V, Potnis N, Canteros B I, Stall R E, Jones J B. 2015. A functional *XopAG* homologue in *Xanthomonas fuscans* pv. *aurantifolii* strain C limits host range. *J Plant Pathology*, 1 – 8. Doi: 10.1111/ppa.12361
- Gottwald T R, Hughes G, Graham J H, Sun X A, Riley T. 2001. The citrus canker epidemic in Florida: The scientific basis of regulatory eradication policy for an invasive species. *Phytopathology*, 91: 30 – 34.
- Gottwald T R, Sun X A, Riley T, Graham J H, Ferrandino G, Taylor E L. 2002. Geo-referenced spatiotemporal analysis of the urban citrus canker epidemic in Florida. *Phytopathology*, 92: 362 – 377.
- Gürlebeck D, Thieme F, Bonas U. 2006. Type III effector proteins from the plant pathogen *Xanthomonas* and their role in the interaction with the

- host plant. Journal of Plant Physiology 163: 233 – 255.
- Guo Y, Figueiredo J F, Jones J, Wang N. 2011. *HrpG*, together with *HrpX*, play global roles in coordinating different virulence traits of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. Mol Plant-Microbe Interact, 24: 649 – 661.
- Guo Y, Sagaram U S, Kim J S, Wang N. 2010. Requirement of the *galU* gene for polysaccharide production by and pathogenicity and growth in planta of *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. Appl Environ Microbiol, 76: 2234 – 2242.
- Hu Chun-hua, Xu Lei, Ma Xian-feng, Long Gui-you, Liu Kun-yu, Deng Zi-niu. 2008. Preparation of antiserum of the recombinant *pthA*-NLS and its inhibition effect on citrus canker disease. Acta Horticulturae Sinica, 35 (6): 811 – 818. (in Chinese)
- 胡春华, 徐磊, 马先锋, 龙桂友, 刘昆玉, 邓子牛. 2008. 柑橘溃疡病致病基因 *pthA* 核定位信号肽抗血清的制备及其抑菌研究. 园艺学报, 35 (6): 811 – 818.
- Hu Y, Zhang J L, Jia H, Sossso D, Li T, Frommer W B, White F F, Wang N, Jones J B. 2014. Lateral organ boundaries 1 is a disease susceptibility gene for citrus bacterial canker disease. PNAS, 111 (4): 521 – 529.
- Huang T P, Lu K M, Chen Y H, 2013. A novel two-component response regulator links *rpf* with biofilm formation and virulence of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citrumelo* F1, which causes citrus bacterial spot disease, and related strains provides insight into virulence and host specificity. Journal of Bacteriology, 193: 6342 – 6357.
- Jalan N, Kumar D, Yu F, Jones J B, Graham J H, Wang N. 2013. Complete genome sequence of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* strain A<sup>w</sup>12879, a restricted host-range citrus canker causing bacterium. Genome Announc, 1 (3): e000235-13.
- Jacian F J, Destefano S A, Rodrigues N J, Belasque J J. 2009. Detection of a new bacterium related to *Xanthomonas fuscans* subsp. *aurantifolii* infecting swingle citrumelo in Brazil. Plant Disease, 93 (10): 1074.
- Khodakaramian G, Swings J. 2011. Genetic diversity and pathogenicity of *Xanthomonas axonopodis* strains inducing citrus canker disease in Iran and South Korea. Indian J Microbiol, 51 (2): 194 – 199.
- Laia M L, Moreira L M, Dezajacom J, Brigati J B, Ferreira C B, Ferro M I, Silva A C, Ferro J A, Oliveira J C. 2009. New genes of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* involved in pathogenesis and adaptation revealed by a transposonbased mutant library. BMC Microbiol, 9: 12.
- Lee S, Lee J, Lee D H, Lee Y H. 2008. Diversity of PthA of *Xanthomonas* strains causing citrus bacterial canker and its relationship with virulence. The Plant Pathology Journal, 24 (3): 357 – 360
- Li W B, Song Q J, Brlansky R H, Hartung J S. 2007. Genetic diversity of citrus bacterial canker pathogens preserved in herbarium specimens. PNAS, 104 (11): 18427 – 18432.
- Li J, Wang N. 2011. The *wxacO* gene of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* encodes a protein with a role in lipopolysaccharide biosynthesis, biofilm formation, stress tolerance and virulence. Mol Plant Pathol, 12: 381 – 396.
- Malamud F, Torres P S, Roeschlin R, Rigano L A, Enrique R, Bonomi H R, Castagnaro A P, Marano M R, Vojnov A A. 2010. *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* flagellum is required for mature biofilm and canker development. Microbiology, 157: 819 – 829.
- Mendes B M J, Cardoso S C, Boscariol-Camargo R L, Cruz R B, Mourao Filho F A A, Filho A B. 2010. Reduction in susceptibility to *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* in transgenic citrus sinesis expressing the rice *Xa21* gene. Plant Pathol, 59: 68 – 75.
- Moreira L M, Almeida N F, Potnis N, Digiampietri L A, Adi S S, Bortolossi J C, da Silva A C, da Silva A M, de Moraes F E, de Oliveira J C, de Souza R F, Facincani A P, Ferraz A L, Ferro M I, Furlan L R, Daniele F G, Jones J B, Kitajima E W, Laia M L, Leite R P, Milton Y N, Neto J R, Nociti L A, Norman D, Ostroski E H, Pereira H A, Staskawicz B J, Tezza R I, Ferro J A, Vinatzer B A, Setubal J C. 2010. Novel insights into the genomic basis of citrus canker based on the genome sequences of two strains of *Xanthomonas fuscans* subsp. *aurantifolii*. BMC Genomics, 11: 238.
- Ngoc L B T, Verniere C, Jouen E, Ah-You N, Lefeuvre P, Chiroleu F, Gagnevin L, Pruvost O. 2009. Amplified fragment length polymorphism and multilocus sequence analysis-based genotypic relatedness among pathogenic variants of *Xanthomonas citri* pv. *citri* and *Xanthomonas campestris* pv. *bilvae*. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 60 (3): 515 – 525.
- Rezaei M K, Shams-Bakhsh M, Alizadeh A. 2012. Genetic diversity among *Xanthomonas citri* subsp. *citri* strains in Iran. Journal of Plant Procetion Research, 52 (1): 1 – 9.
- Rigano L A, Marano M R, Castagnaro A P, do Amaral A M, Voinov A A. 2010. Rapid and sensitive detection of citrus bacterial canker by

- loop-mediated isothermal amplification combined with simple visual evaluation methods. *BMC Microbiology*, 10: 176. <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/10/176>.
- Romero A M, Kousik C S, Ritchie D F. 2001. Resistance to bacterial spot in bell pepper induced by acibenzolar-S-methyl. *Plant Disease*, 85: 185 – 194.
- Rott P C, Fleites L, Marlow G, Rouer M, Gabriel D W. 2011. Identification of new candidate pathogenicity factors in the xylem-in-vading pathogen *Xanthomonas albilineans* by transposon mutagenesis. *Mol Plant-Microbe Interact*, 24: 594 – 605.
- Rybak M, Minsavage G V, Stall R E, Jones J B. 2009. Identification of *Xanthomonas citri* spp. *citri* host specificity genes in a heterologous expression host. *Molecular Plant Pathology*, 10 (2): 249 – 262
- Salzberg S L, Sommer D D, Schatz M C, Phillippy A M, Rabinowicz P D, Tsuge S, Furutani A, Ochiai H, Delcher A L, Kelley D, Madupu R, Puiu D, Radune D, Shumway M, Trapnell C, Aparna G, Jha G, Pandey A, Patil P B, Ishihara H, Meyer D F, Szurek B, Verdier V, Koebnik R, Dow J M, Ryan R P, Hirata H, Tsuyumu S, Won Lee S, Seo Y S, Sriariyanum M, Ronald P C, Sonti R V, van Sluys M A, Leach J E, White F F, Boqdanove A J. 2008. Genome sequence and rapid evolution of the rice pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* PXO99A. *BMC Genomics*, 9: 204.
- Schaad N W, Postnikova E, Lacy G, Sechler A, Agarkova I A. 2006. Emended classification of *Xanthomonas* pathogens on citrus. *Syst and Appl Microbiol*, 29: 690 – 695.
- Sena-Vélez M, Redondo C, Gell I, Ferragud E, Johnson E, Graham J H, Cubero J. 2014. Biofilm formation and motility of *Xanthomonas* strains with different citrus host range. *J Plant Pathology*, 1 – 9. Doi: 10.1111/ppa.12311
- Swarup S, Feyter R, Bransky R H, Gabriel D W. 1991. A pathogenicity locus from *Xanthomonas citri* enables strains from several pathovars of a *X. campestris* to elicit cankerlike lesions on citrus. *Phytopathology*, 81: 802 – 809.
- Vauterin L, Hoste B, Kersters K, Swings J. 1995. Reclassification of *Xanthomonas*. *Int J Syst Bacteriol*, 45: 472 – 489.
- Verniere C, Hartung J S, Pruvost O P, Civerolo E L, Alvarez A M, Maestri P, Luisetti J. 1998. Characterization of phenotypically distinct strains of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* from Southwest Asia. *Eur J Plant Pathol*, 104: 477 – 487.
- Wang P G, Guo H, Yi W, Song J K. 2008. Current understanding on biosynthesis of microbial polysaccharides. *Curr Top Med Chem*, 8: 141 – 151.
- Withers H, Swift S, William P. 2001. Quorum sensing as an integral component of gene regulatory net works in gram-negative bacteria. *Curr Opin Microbiol*, 4: 186 – 193.
- Yan Q, Wang N. 2011. The *ColR/ColS* two-component system plays multiple roles in the pathogenicity of the citrus canker pathogen *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. *J Bacteriol*, 193: 1590 – 1599.
- Yan Q, Wang N. 2012. High-throughput screening and analysis of genes of *Xanthomonas citri* subsp. *citri* involved in citrus canker symptom development. *J The American Phytopathological Society*, 25 (1): 69 – 84.
- Yang Y N, Feyter D R, Gabriel D W. 1996. Watersoaking functions of *XanH* 1005 are redundantly encoded by members of the *Xanthomonas avr/pth* gene family. *Mol Plant Microbe Interact*, 9: 105 – 113.
- Yang L, Hu C, Li N, Zhang J, Yan J, Deng Z. 2011. Transformation of sweet orange [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck] with *pthA*-nls for acquiring resistance to citrus canker disease. *Plant Mol Bio*, 75: 11 – 23.
- Ye G, Hong N, Zou H S, Zakria M, Wang G P, Chen G Y. 2013. *tale*-based genetic diversity of Chinese isolates of the citrus canker pathogen *Xanthomonas citri* subsp. *citri*. *Plant Disease*, 97 (9): 1187 – 1194.