

桉树青枯病病原鉴定和致病力测定*

吳清平** 梁子超

(林学系)

提 要

桉树 (*Eucalyptus*) 青枯病于1983年和1986年分别在我国广西和广东发现。该病病原菌通过本试验鉴定为青枯假单胞杆菌 (*Pseudomonas solanacearum* Smith), 属生理小种 1、生化型Ⅲ。桉树青枯菌与木麻黄、番茄及甘薯等青枯菌在形态特征、染色反应、培养特性、烟叶浸润反应、碳水化合物利用能力、硝酸盐还原等生化特性、酯酶同工酶某些主酶带、过氧化物酶同工酶谱和蛋白质氨基酸成分等方面基本相同。从不同桉树树种和地理种源分离到的青枯菌菌株的致病力基本相同。桉树青枯菌对桉树的致病力较强, 木麻黄、番茄、甘薯及花生青枯菌对桉树的致病力较弱。经过比较分析, 发现桉树和木麻黄、番茄、甘薯青枯菌对某些寄主的致病力可能与其酯酶同工酶存在较密切的关系。

关键词 桉树; 青枯病; 青枯假单胞杆菌; 病原鉴定; 致病力测定

引 言

桉树青枯病国外未见报道。1983年及1986年分别于我国广西壮族自治区和广东省发现, 在林间主要见于新引种的柳桉 (*Eucalyptus amygdalina*)、尾叶桉 (*E. urophylla*) 及本地的柠檬桉 (*E. citriodora*) 等桉树上, 发病率为 2~10% 左右^[1]。

目前国际上对植物青枯病病原菌的鉴定, 一般主要依据是病原细菌的形态特征、染色反应、培养特性、一般生理生化反应、血清学特性及寄主范围^{[2][3][4][5]}。近年来, 某些真菌及细菌的同工酶特性及菌体蛋白质氨基酸成分作为分类及鉴定的依据开始为人们所重视, 尤其在一般性状基本相同的两个或两个以上菌株间进行比较研究时用得较为广泛^{[4][7]}。本研究主要从一般细菌学性状、酯酶同工酶、过氧化物酶同工酶、蛋白质

*本文为硕士学位研究生毕业论文的一部分, 承蒙植保系范怀忠教授、广东省农科院伍尚忠研究员的审阅, 深表谢意。

**1984~1987研究生, 现在广东省微生物所工作。

1987年9月17日收稿

氨基酸成分及寄主范围等方面对桉树青枯病病原进行了鉴定研究。

桉树林间道路两旁常种木麻黄, 前作及幼林下常种甘薯及花生等农作物, 这些植物都是青枯菌寄主植物。为了进行桉树青枯病病原鉴定和桉树抗病树种的筛选, 本研究比较研究了桉树和这些寄主植物青枯菌的有关特性和致病力。

材 料 和 方 法

(一) 菌株来源

本研究的桉树青枯菌均从广东省雷州林业局的桉树青枯病病株中分离的, 其中菌株 E-1、E-5 分别从龙门林场的尾叶桉及柠檬桉病株中分离, E-2、E-3、E-6 分别从林科所的赤桉、柳桉及雷林一号桉病株中分离, E-4、E-7 分别从纪家林场的柳桉及小帽桉病株中分离; 甘薯青枯菌 S-1 从广东省雷州林业局龙门林场的甘薯青枯病病株中分离; 木麻黄青枯菌 C-1 及番茄青枯菌 T-1 分别从广州五山的木麻黄及番茄青枯病病株中分离; 花生青枯菌 P-1 由华南农业大学植保系提供。

供试的各青枯菌菌株经接种确定其致病性后, 均置于无菌蒸馏水中, 在室温下保存, 并定期在 T Z C 培养基上划线观察, 以保证其致病力不致衰退。试验用菌均先在 T Z C 培养基平板上进行鉴定, 根据菌落的流动性、颜色及形状大小等挑取毒性的菌落移到 P D M 培养基 (T Z C 培养基不加 T Z C) 上, 32℃ 下培养 48 小时。如需配成悬浮液, 则用无菌水将菌苔洗下来, 摇匀后用 McFarland 云度计在 751 型分光光度计中, 波长 650nm 下进行比色, 将浓度调至 1.5×10^8 细菌/毫升。

(二) 青枯菌细菌学性状的测定

有关细菌学性状的研究, 包括形态特征、染色反应、培养特性及一般生化特性等方面, 参照植病研究方法^[1]。

(三) 青枯菌酯酶同工酶及过氧化物酶同工酶的聚丙烯酰胺凝胶等电聚焦电泳

1. 样品制备: 用玻璃棒把在 32℃ 下培养 48 小时的毒性型菌苔从 P D M 平板上刮下来, 每个菌株称取 1 克分别置于洁净的离心管中, 加入 2.5 毫升提取缓冲液^[13]。在冰浴中, 用 C P S—1 A 超声波粉碎机处理 20 分钟 (每处理 5 分钟, 需冷却 2~3 分钟) 后, 置于 4℃ 冰箱中过夜, 用冷冻离心机在 4℃ 下离心 20 分钟 (15000 转/分), 将上清液放在 4℃ 冰箱中保存备用 (取少许上清液加蛋白染色剂考马斯亮蓝 D—250, 测得蛋白质含量约为 1 微克/微升)。

2. 凝胶柱的制备: 凝胶贮备液的制备及凝胶柱的制作均参照胡能书等的方法^[5], 两性电解质载体为 20% 的 Carrier Ampholytes, pH 3~9。

3. 电泳: 用微量进样器进样 50 微升/管, 为防止样品的漂浮及电极液^[6]与样品直接接触使酶失活, 在其上用 1% 的两性电解质载体复盖。电泳采用 D Y Y—Ⅲ 系列电泳仪, 在 4℃ 的冰箱中进行。起始电流为 3 毫安 (0.25 毫安/管), 电泳 15 个小时, 此时电流下降至 1 毫安, 电压升至 400 伏左右。

4. 染色及酶带等电点的测定: 参照胡能书等的方法^[5]。

(四) 青枯菌蛋白质氨基酸成分的分析

用玻璃棒把在32℃下培养了48小时的毒性型菌苔从PDM平板上刮下来, 置于洁净的培养皿中, 在70℃下烘干10个小时, 然后在电子分析天平上称取每个菌株的菌体10毫克, 分别置于试管中。菌体蛋白质的水解, 采用盐酸水解法^[9]。菌体蛋白质中各种氨基酸的成分用HITACHI 835型氨基酸自动分析仪进行测定。

(五) 苗木来源

试验所需的柳桉 (*E.amygdalina* 13134) 来自澳大利亚, 茄子、花生来自广东蕉岭, 烟草、番茄来自广东省农科院, 甘薯来自广东省雷州林业局, 木麻黄无性品系集2、马铃薯及香蕉来自华南农业大学。

柳桉 13434 采用播种苗, 待苗龄3个月左右时接种; 番茄、茄子、烟草及花生亦采用播种苗, 待长至4~5片叶时接种; 木麻黄无性品系集2采用小枝水培法繁殖, 待苗龄4~6个月时接种; 马铃薯及甘薯采用块茎繁殖, 待长至20厘米高左右时接种; 香蕉从蕉林中选取高度为20厘米左右高的健康分蘖苗进行接种。

(六) 接种技术及接种条件

柳桉 13434、木麻黄无性品系集2、甘薯、马铃薯及花生采用剪顶法接种; 番茄、茄子及烟草采用刺茎法^[14]接种; 香蕉采用注射法^[8]接种。

植株接种后置于温室内, 温度白天为33~35℃, 晚上为25~28℃; 相对湿度为70~80%。接种后, 分别于第4、7、14、21、25及28天对植株发病程度按下列的标准分级记录。○=无症状; 1=植株无明显症状, 接种处维管束变褐, 靠近接种处有一片叶萎蔫; 2=1/3植株叶片萎蔫; 3=2/3植株叶片萎蔫; 4=全株植株萎蔫死亡。

(七) 落叶浸润反应

参照Lozano及Sequeira的方法^[12]测定。

试 验 结 果

(一) 桉树青枯病的症状

调查结果表明, 雷州半岛上的桉树青枯病一般在4~11月发生, 高温多雨的6~8月为发病高峰。林间感病幼树地上部的症状大致可分成两种类型。第一种为急性型, 病株叶片急剧失水萎蔫, 不脱落而悬挂于树枝上, 呈典型的青枯症状; 茎木质部变成黑色(图2), 枝干外面有时可出现褐色至黑褐色的条斑; 发病植株根部腐烂(图3), 皮层脱落, 木质部和髓部坏死, 坏死的根茎有水浸后的臭味, 将根茎横切面插入水中, 可使清水变成乳白色, 如将横切面保湿, 不久切面即有白色到淡黄褐色的细菌成环状溢出(图4)。这种类型的病株从发病到整株枯死所需的时间一般为2~3周。第二种为慢性型, 植株看上去发育不良, 较矮小; 下部叶片先变成紫红色, 以后色泽不断加深并向上发展, 最后叶片脱落死亡, 部分枝条和侧枝出现不规则的变褐坏死, 严重时亦可造成整株枯死。这种类型, 从植株发病到整株枯死所需的时间一般为3~6个月或更长。

人工接种柳桉 13434 后,当病菌扩展到叶片的叶脉,大小叶脉都变红色,这和绿色的叶肉组织形成鲜明的对照。

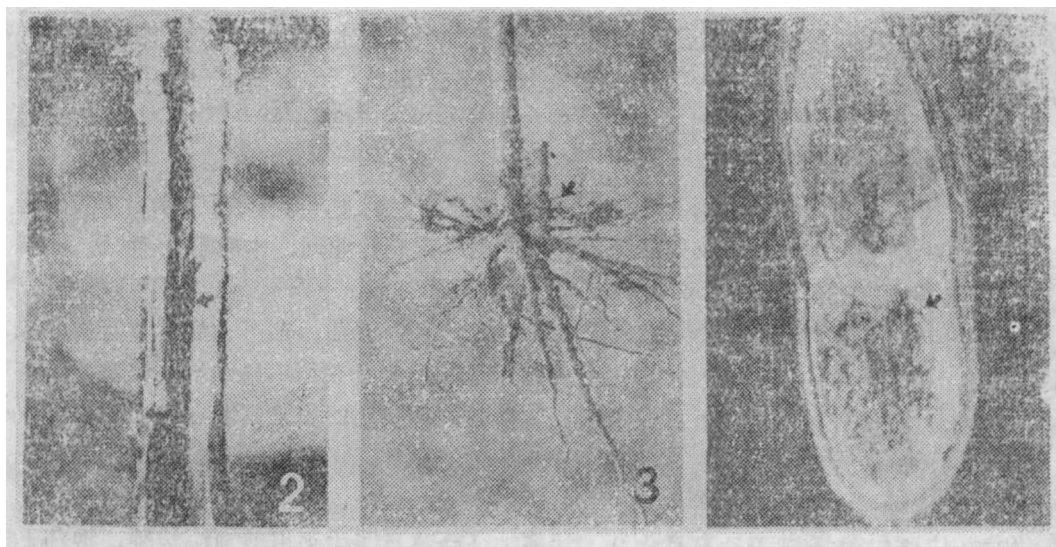


图2 病株枝木质部变黑褐色

图3 病株根部变黑褐色

图4 病株枝干横切面上溢出的病原
细菌粘液

(二) 桉树青枯菌的一般特性

1. 形态、染色反应及培养特性: 桉树青枯菌的形状、大小及鞭毛数目均采用 PHILIPS—400透射电镜进行观察。革兰氏染色、荚膜染色、芽孢染色及培养特性的测定均采用常规方法。

观察结果表明, 桉树青枯菌菌体均两端钝圆、两极着色较深、呈短杆状, 大小为 $1.10 \sim 1.55 \times 0.54 \sim 0.72$ 微米, 绝大多数菌体无鞭毛, 少数具极生鞭毛 1~3 根; 革兰氏染色反应呈阴性; 无芽孢, 亦无荚膜。在 PDA 培养基、TZC 培养基、PDM 培养基、PDM 培养液、肉汁胨培养液及马铃薯柱上的培养性状比较一致, 与一般青枯菌的基本相同^{[2][9][11]}。比较适宜的生长温度为 $32 \sim 35^{\circ}\text{C}$, pH 值为 $6.5 \sim 7.5$ 。对氯化钠所能忍耐的最高浓度为 1.5% 左右。

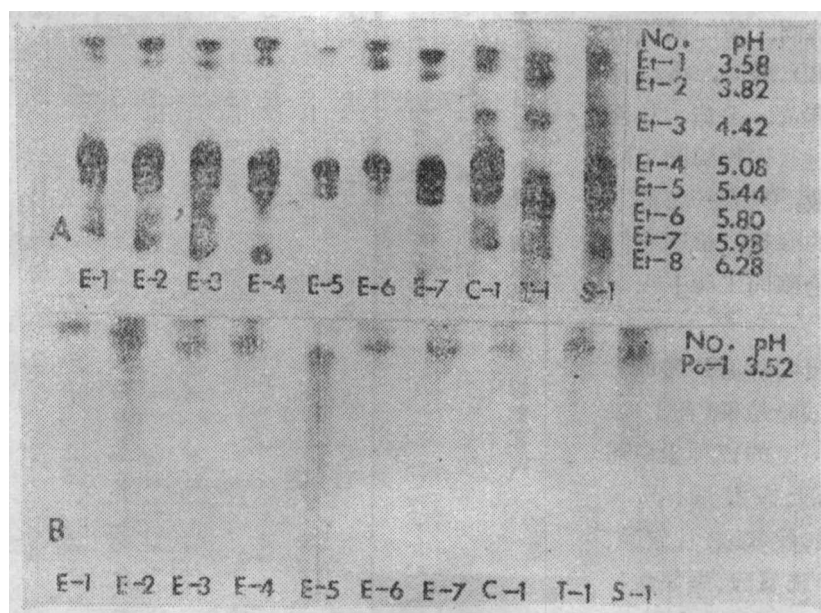
2. 烟叶浸润反应: 桉树青枯菌各菌株浸润烟草叶片 36 小时后, 侵染点均出现淡褐色斑点, 以后颜色不断加深, 面积不断扩大。60 小时后, 斑点变成深色, 边缘有一个近似黄褐色的晕圈。96 小时后, 叶片开始萎蔫, 最后枯死。

(三) 桉树青枯菌的生化特性

1. 一般生化特性的测定: 碳水化合物的发酵, 采用磷酸二氢铵组合培养液 ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 1.0 克, HCl 0.2 克, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 克, 蒸馏水 1000 毫升) 作为基础培养液, 用溴百里酚蓝作为指示剂, 接种后在 32°C 下培养, 观察到第 40 天。试验结果表明, 桉树青枯菌和木麻黄、番茄青枯菌一样, 均能利用乳糖、麦芽糖、维纤二糖、甘露醇、山梨

醇、甜醇、葡萄糖、果糖、蔗糖、半乳糖、吐温80及甘油，并产生酸，但不产生气体，对木糖、棉子糖及水杨甙只能轻度利用并产生微量酸，对七叶灵及乙醇则完全不能利用。但比较特殊的是，甘薯菌株 S-1 不能利用乳糖、麦芽糖及纤维二糖。

硝酸盐还原（取培养液 1 毫升，加 1% 磺胺 0.5 毫升后，再加 0.02% α -萘胺 0.5 毫升测定）是接种后第 2 天及第 4 天的观察结果，氨气、硫化氢及吲哚的产生观察到接种后第 30 天，明胶液化采用穿刺接种法测定，观察到接种后第 50 天，淀粉水解用试管斜面划线培养法，于接种后 5、10、20 及 30 天测定，M.R. 及 V.P. 试验测定到接种后第 15 天，柠檬酸盐及丙二酸盐的利用试验采用试管斜面划线培养法，观察到接种后第 25 天，过氧化氢酶活性是挑取 T Z C 培养基上培养 48 小时后的菌落，用 3% 的过氧化氢溶液测定，酪氨酸酶活性是在含 0.1% L-酪氨酸的 PDM 培养基上采用划线法测定，于接种后 24、48 及 72 小时观察，以上试验，培养温度均采用 32℃。试验结果表明，在测定的 12 个项目中，桉树青枯菌和木麻黄、番茄、甘薯青枯菌一样，均能使硝酸盐还原，产生氨气，能利用柠檬酸盐，并且有较高的过氧化氢酶及酪氨酸酶活性，对明胶能轻度液化，不产生硫化氢及吲哚，不利用丙二酸盐，不水解淀粉，M.R. 及 V.P. 反应均为阴性。



- | | |
|-------------|---------------|
| E-1 为尾叶桉青枯菌 | E-6 为雷林一号桉青枯菌 |
| E-2 为赤桉青枯菌 | E-7 为小帽桉青枯菌 |
| E-3 为柳桉青枯菌 | C-1 为木麻黄青枯菌 |
| E-4 为柳桉青枯菌 | T-1 为番茄青枯菌 |
| E-5 为柠檬桉青枯菌 | S-1 为甘薯青枯菌 |

图 1 桉树青枯菌酯酶同工酶谱 (A) 及过氧化物酶同工酶谱 (B)
(电泳时上面为阳极，下面为阴极)

2. 酯酶同工酶及过氧化物酶同工酶的测定: 采用聚丙烯酰胺凝胶等电聚焦电泳测定桉树青枯菌酯酶同工酶的试验结果(图1A)表明, 桉树青枯菌和木麻黄、番茄、甘薯青枯菌的酯酶同工酶的多数主酶带基本相同, 多数菌株具有主酶带E₁-1、E₁-2、E₁-4、E₁-5及E₁-8。但不同的菌株, 特别是不同寄主植物的菌株存在一定的差异。

采用聚丙烯酰胺凝胶等电聚焦电泳测定桉树青枯菌过氧化物酶同工酶的试验结果(图1B)表明, 桉树青枯菌和木麻黄、番茄、甘薯青枯菌的过氧化物酶同工酶谱完全一致, 只有一条等电点为3.52的酶带, 证明它们在过氧化物酶同工酶上没有分化。

3. 蛋白质氨基酸成分的测定: 试验结果(表1)表明, 在已测定的17种蛋白质氨基酸中, 天冬氨酸、苏氨酸、谷氨酸、丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸、半胱氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸、组氨酸、精氨酸在桉树青枯菌等15种蛋白质氨基酸及脯氨酸在桉树青枯菌和木麻黄、番茄、甘薯青枯菌中的含量是基本一致的, 而蛋氨酸及酪氨酸的含量则有所差异。

表1 桉树青枯菌蛋白质氨基酸成分(氨基酸/菌体×100)的测定*

菌株	天冬氨酸 (ASP)	苏氨酸 (THR)	丝氨酸 (SER)	谷氨酸 (GLU)	甘氨酸 (GLY)	丙氨酸 (ALA)	半胱氨酸 (CYS)	缬氨酸 (VAL)	蛋氨酸 (MET)	异亮氨酸 (ILE)	亮氨酸 (LEU)	酪氨酸 (TYR)	苯丙氨酸 (PHE)	赖氨酸 (LYS)	组氨酸 (HIS)	精氨酸 (ARG)	脯氨酸 (PRO)
E-1	4.59	2.50	2.05	6.08	2.93	4.71	0.28	3.12	0.33ab	2.21	4.02	1.99 b	1.82	3.10	0.90	2.77	2.22
E-2	4.89	2.69	2.25	6.59	3.20	5.10	0.32	3.39	0.53ab	2.43	4.42	2.10ab	1.96	3.08	1.01	3.13	2.43
E-3	4.47	2.45	2.00	6.06	2.94	4.63	0.28	3.09	0.43ab	2.18	4.06	2.29a	1.76	2.96	0.87	2.64	2.41
E-4	4.83	2.75	2.23	6.80	3.12	5.27	0.34	3.38	0.51ab	2.42	4.41	1.91 b	2.03	3.29	1.06	3.21	2.47
E-5	4.74	2.68	2.14	6.37	3.05	5.00	0.32	3.29	0.72a	2.35	4.27	2.01 b	1.95	3.13	0.97	3.01	2.44
E-6	4.74	2.66	2.11	6.52	2.93	5.00	0.23	3.34	0.57a	2.57	4.43	1.63 c	2.11	3.10	1.05	3.39	2.33
E-7	4.50	2.49	2.05	6.09	2.87	4.52	0.27	3.08	0.58a	2.18	4.10	2.33a	2.05	3.14	0.93	2.73	2.30
C-1	4.31	2.44	1.98	5.88	2.81	4.36	0.25	3.02	0.14b	2.23	3.95	2.00 b	1.75	3.01	0.89	2.79	2.29
T-1	4.61	2.68	2.20	6.74	3.01	4.92	0.29	3.28	0.41ab	2.34	4.29	1.86 bc	1.93	3.14	1.04	3.10	2.34
S-1	4.44	2.47	2.00	6.15	2.91	4.68	0.28	3.12	0.33ab	2.27	4.00	1.85 bc	1.81	3.06	0.90	2.97	2.22

*表中的数据为重重复两次的平均数。经F0.05检验, 除MET及TYR外, 其它蛋白质氨基酸成分在各菌株之间无显著差异。

**同一项目中, 任意两个平均数间带有相同字母的表示无显著差异, 反之则有显著差异(P0.05)。

表 2

桉树青枯菌致病力的测定*

菌株	柳 桉 13434	茄 子	花 生	烟 草	番 茄	甘 薯	木 麻 黄 (集 2)	马 铃 薯
E-1	+++++	+++++	++++	++++	+++++	+++	+++	+++
E-2	+++++	+++++	+++++	++++	+++++	++	++	+++
E-3	+++++	+++++	+++++	++++	+++++	++	+	+++
E-4	+++++	+++++	+++++	++++	+++++	++	++	+++
E-5	++++	+++++	+++++	+++	+++++	+++	++	+++
E-6	+++++	+++++	+++++	++	+++++	+	+	+++
E-7	++++	+++++	+++++	++	++++	++	+++	+++
C-1	++++	+++++	+	+++	+++++	++	+++++	+++
T-1	++	++++	+++	+	+++++	++	+	++++
S-1	++	++++	+	++++	+++++	+++	++	++
P-1	++	+++++	+++++	++	++	0	+	++

*表中为每次接种20株苗，重复三次的结果。对照均不发病。所有供试青枯菌对香蕉均无致病力。

+++++表示极高度致病（感病指数81以上），++++表示高度致病（感病指数61~80），+++表示中等致病（感病指数41~60），++表示轻度致病（感病指数21~40），+表示极轻度致病（感病指数1~20），0表示完全无致病力（感病指数为0）。

在蛋氨酸的含量上，木麻黄青枯菌 C-1 比其它菌株低；在酪氨酸含量上，桉树青枯菌 E-6 比其它菌株低。

（四）桉树青枯菌致病力的测定

用桉树青枯菌 7 个菌株及木麻黄、番茄、甘薯、花生青枯菌菌株分别接种桉柳13434、茄子、花生、烟草、番茄、甘薯、木麻黄无性品系集 2、马铃薯及香蕉等 9 种青枯菌寄主植物。接种后25天的结果（表 2）表明，桉树青枯菌 7 个菌株的致病力无明显差异，桉树青枯菌和木麻黄、番茄、甘薯、花生青枯菌比较，它们之间的致病力有较明显的差异；接种供试的某一寄主植物时，这种寄主植物的青枯菌对原寄主的致病力较强，而其它寄主植物的青枯菌的致病力通常较弱。

讨 论

（一）根据桉树青枯菌 7 个菌株及木麻黄、番茄、甘薯等青枯菌在形态特征、染色反应、培养特性、利用碳水化合物产酸能力、硝酸盐还原等生化特性、酯酶同工酶谱、过氧化物酶同工酶谱、蛋白质氨基酸成分及致病力等方面的比较研究，桉树青枯病病原菌被鉴定为青枯假单胞杆菌（*Pseudomonas solanacearum* Smitn）^{[2][8][9][11]}。根

据寄主范围、酪氨酸酶活性及烟叶浸润反应等试验结果,该菌属于生理小种 1¹⁸¹¹⁰¹¹¹ (12)。根据利用三糖三醇的能力,该菌属于生化型Ⅲ¹⁰¹¹¹。由于桉树青枯菌 7 个菌株在一般细菌学性状、同工酶特性、蛋白质氨基酸成分及致病力等方面基本一致,因此,桉树青枯菌的 7 个菌株应为同一菌系。

(二) 本研究进行结果分析时,发现桉树青枯菌 7 个菌株和木麻黄、番茄、甘薯青枯菌的致病力与其酯酶同工酶有一定的关系。前人对一些病原菌的致病力与其酯酶同工酶的关系有过一些研究⁴,但有关青枯菌的致病力与其酯酶同工酶的关系,尚未见报道。从本研究结果(图 1 及表 2)初步可以看出桉树和其它几种寄主植物青枯菌的致病力与其酯酶同工酶之间可能存在五种关系。

1. 桉树青枯菌 7 个菌株对柳桉 13434、茄子、番茄、花生、甘薯、木麻黄无性品系集 2、马铃薯及香蕉的致病力基本相同,它们均具主酶带 E₁-1、E₁-2、E₁-4 及 E₁-5。

2. 桉树、木麻黄、番茄及甘薯青枯菌对茄子、番茄均有高度致病力,它们均具主酶带 E₁-1、E₁-2 及 E₁-5。

3. 桉树青枯菌 7 个菌株对花生均有高度致病力,它们均无主酶带 E₁-3;而木麻黄、番茄及甘薯青枯菌对花生的致病力较弱,它们均具主酶带 E₁-3。

4. 桉树、木麻黄及甘薯青枯菌对马铃薯的致病力较弱,它们均具主酶带 E₁-4;而番茄青枯菌对马铃薯的致病力较强,它无主酶带 E₁-4。

5. 桉树青枯菌 E-1、E-2、E-3、E-4 及木麻黄、甘薯青枯菌对烟草的致病力较强,它们均具主酶带 E₁-8;而桉树青枯菌 E-5、E-6 及 E-7 对烟草的致病力较弱,它们均无主酶带 E₁-8 (番茄青枯菌虽具主酶带 E₁-8,但对烟草的致病力较弱,可能与其无主酶带 E₁-4 有关)。

以上只是一个初步的比较分析结果,它们之间是否真正存在如此密切的关系,还有待于进一步的试验证明。

引 用 文 献

- (1) 方中达. 植病研究方法. 北京: 农业出版社, 1979: 161—224
- (2) 布坎南, R.E. 及 N.E. 吉本斯 (中国科学院微生物研究所译). 伯杰细菌鉴定手册 (第八版) 北京: 科学出版社, 1984: 274—313
- (3) 吕金殿, 甘莉, 牛淑贞. 植物病理学报, 1981; 11 (8): 63—64
- (4) 李清锐, 朱华, 王彰明. 植物病理学报, 1985; 15 (4): 217—222
- (5) 胡能书, 万贤国. 同工酶技术及其应用. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1985: 52—58
- (6) 梁子超, 郭权. 林业科技通讯, 1986; (12): 封二, 29
- (7) Baptist, J.N., C.R. Shaw & M. Mandel. 1971. Comparative zone electrophoresis of enzyme of *Pseudomonas solanacearum* and *Pseudomonas cepacia*. J. Bact. 108 (2): 799—803
- (8) Buddenhagen, J.N. 1960. Strains of *Pseudomonas solanacearum* in indigenous host in banana plantation of Costa Rica, and their relationship to bacterial

- wilt of banana. *Phytopathol.* 50: 660-664
- (9) Buddenhagen, J.N. & A. kelman. 1964. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Ann. Rev. phytopathol.* 2: 203-230
- (10) Hayward, A.C. 1964. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. *J. Appl. Bact.* 27: 265-277
- (11) He, L.Y., L. Sequeira & A. kelman. 1983. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum* from China. *Plant Disease* 67: 1357-1361
- (12) Lozano, J. C. & L. Sequeira. 1970. Differentiation of races of *Pseudomonas solanacearum* by a leaf infiltration technique. *Phytopathol.* 60: 833-835
- (13) Macko, V., G.R. Honold & M.A. Stahman. 1967. Soluble proteins and multiple enzyme from in early growth of wheat. *Phytopathol.* 6: 465-471
- (14) Winstead, N.A. & A. kelman. 1952. Inoculation techniques for evaluating resistance to *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathol.* 42: 628-634

IDENTIFICATION AND PATHOGENIC TESTS OF THE CAUSAL ORGANISM OF THE BACTERIAL WILT OF EUCALYPTUS

WU Qingping Liang Zichao

(Department of Forestry)

ABSTRACT

Bacterial wilt disease of eucalyptus which was not known before in the world was first found in Guangxi Zhuang Autonomous region and Guangdong province, China, in 1983 and 1986 respectively. The bacterial agent from eucalyptus was identified as *Pseudomonas solanacearum* Smith, belonging to race 1 and biotype III, on the basis of morphology of the bacteria, staining reactions, reactions of the tobacco leaf infiltration, ability of the utilizing carbohydrates, biochemical characteristics of the nitrate reduction et al., major band of the esterase isoenzyme, pattern of the peroxidase isoenzyme and contents of the protein amino acids. This bacterial pathogen is similar to those from sweet potato, casuarina and tomato, etc. The pathogenicity of the isolates of *Pseudomonas solanacearum* from different eucalyptus species and provinces was almost identical. The *Pseudomonas solanacearum* from eucalyptus was more pathogenic to eucalyptus than those from casuarina, tomato, sweet potato and peanut. In the tests, the author found by comparative analyzing that there could be a close relationship between the pattern of the esterase isoenzyme of *Pseudomonas solanacearum* from eucalyptus and casuarina, tomato, sweet potato and their pathogenicity to certain hosts.

Key words: *Eucalyptus*, bacterial wilt, *Pseudomonas solanacearum*, identification, pathogenicity