

# 广东水稻细菌性基腐病的致病性及生物学特性研究

刘琼光 曾宪铭

(华南农业大学资源环境学院, 广州, 510642)

**摘要** 通过一系列的细菌学性状和致病性试验, 鉴定出广东省水稻一种新病害——水稻细菌性基腐病的病原为菊欧氏杆菌玉米致病变种 *Erwinia chrysanthemi* pv. *zeae*, 并对该病原菌的生物学特性进行了进一步的研究. 结果表明: 病菌生长的最低温度为 12 ℃, 适宜温度范围 28~36 ℃, 其中以 32 ℃最适, 最高温度 41 ℃, 致死温度 53 ℃、10 min. 该病菌生长的 pH 值范围为 pH 5~11, 其中 pH7 最适宜.

**关键词** 水稻细菌性基腐病; 致病性; 生物学特性

**中图分类号** S 435.49

水稻细菌性基腐病是近年来广东水稻上一种新病害. 其症状为茎基部变黑腐烂, 并随发生时间和轻度不同, 地上部可表现为卷叶、枯心、枯孕穗和白穗. 1995 年该病在佛山等地区爆发成灾, 造成了巨大的经济损失. 刘琼光等(1997)初步鉴定该病原为菊欧氏杆菌 *Erwinia chrysanthemi*, 但有关该病原菌的致病变种及其生物学特性, 有必要进一步研究, 本文主要报道在这些方面的研究成果.

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌株

水稻细菌性基腐病菌株(简称水稻菌株)Ech1~Ech8 共 8 个, 其中 Ech1~Ech7 来自广东佛山(南海、三水、高明)等地, Ech8 来自潮州. 玉米细菌性茎腐菌株(简称玉米菌株)1 个, 由南京农业大学植病系提供; 大白菜软腐菌株 *Erwinia carotovora* (Eca)1 个, 华南农业大学细菌室提供.

### 1.2 细菌学性状试验

研究中使用的普通肉汁胨培养基, 马铃薯蔗糖培养基(PDA), 酵母碳酸钙培养基(YDC)以及细菌学研究的革兰氏染色, 鞭毛染色, 荚膜染色, 明胶液化, 厌气生长等均参照植病研究法(方中达, 1979). 其它的细菌学生理生化均参照 Schaad (1988)方法.

### 1.3 致病性试验

引起马铃薯软腐病的能力参照 Kelman(1980)的方法用马铃薯片测定; 对水稻、玉米致病性测定采取茎基部注射法, 接种用细菌为  $1.5 \times 10^9$  CFU/mL.

### 1.4 温度试验

选择水稻菌株 Ech4、Ech6 和 Ech8 进行以下温度生长试验.

(1) 最低和最高温度试验: 将供试菌株分别在系列温度 5、10、12、14、16 ℃和 35、37、39、41、42、43 ℃等温度下斜面培养 24~48 h 后, 观察其生长情况.

(2) 最适温度试验: 将 0.1 mL 浓度为  $1.5 \times 10^9$  CFU/mL 的供试菌悬液分别接种于含 10 mL 普通细菌培养液中, 并分别置于: 24、26、28、30、32、34、36、38 °C 等温度下培养 24 h, 培养后的菌悬液, 根据其混浊度比较其生长情况.

(3) 致死温度测定: 选用一组装有 5 mL 蒸馏水的试管, 进行灭菌消毒后, 分别置于 40、45、50、52、53、54 °C 的恒温水浴锅中, 维持 30 min, 使试管内无菌水温度达到所需温度. 然后分别转入保温瓶中(瓶内装有与试管无菌水相同温度的水), 在无菌操作下, 取 0.1 mL 浓度为  $1.5 \times 10^9$  CFU/mL 的供试菌悬液接种于试管中、摇匀, 并立即置于相应温度下的水浴锅中, 保持 10 min. 随后, 取一环试管内菌悬液在普通细菌培养基平板上划线, 于 28~30 °C 培养, 24~48 h 后检查各自生长情况.

### 1.5 不同 pH 值生长试验

选用 pH 值分别为 3、5、7、9、11 并含 10 mL 豆芽汁蔗糖液体培养基的一组试管, 并相应用 0.2 mol/L  $K_2HPO_4$ , 0.2 mol/L  $H_3BO_3$ , 0.1 mol/L 柠檬酸和 0.2 mol/L NaOH 等溶液调节 pH 值分别为 3、5、7、9、11, 各接种 0.1 mL 浓度为  $1.5 \times 10^9$  CFU/mL 供试菌悬液, 以不接菌为对照, 28~30 °C 培养 24~48 h.

## 2 试验结果

### 2.1 细菌学性状

所有水稻菌株均为杆状, 大小为  $0.7 \mu m \times 1.4 \sim 1.75 \mu m$ . 革兰氏染色反应阴性, 无芽胞和荚膜. 能运动, 周生多根鞭毛. 兼性厌氧. 生化反应试验表明, 水稻菌株与大白菜软腐菌株 Eca, 为不同的种, 与日本水稻基腐菌株的性状基本相似, 见表 1.

表 1 水稻基腐菌株的生化试验<sup>1)</sup>

| 试验内容            | 菌 株  |      |      |      |      |      |      |      |     |                  |
|-----------------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|------------------|
|                 | Ech1 | Ech2 | Ech3 | Ech4 | Ech5 | Ech6 | Ech7 | Ech8 | Eca | 日本 <sup>2)</sup> |
| 果胶酸盐降解          | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +   | +                |
| 卵磷脂酶活性          | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | —   | +                |
| YDC 和 PDA 上产褐色素 | —    | —    | —    | —    | +    | —    | +    | —    | —   | —                |
| YDC 和 PDA 上产兰色素 | —    | —    | —    | —    | —    | —    | —    | —    | —   | —                |
| 明胶液化            | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +   | +                |
| 葡萄糖产气           | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | —   | +                |
| 从蔗糖中产还原物质       | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | —   | +                |
| 三酮苷产生           | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +   | +                |
| 吡啶产生            | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | —   | +                |
| 海藻糖             | —    | —    | —    | —    | —    | —    | —    | —    | +   | —                |
| 麦芽糖             | —    | —    | —    | —    | —    | —    | —    | —    | —   | —                |
| 纤维二糖            | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +   | +                |
| 乳糖              | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +    | +   | +                |
| 甲基—葡萄糖苷         | —    | —    | —    | —    | —    | —    | —    | —    | —   | —                |
| 丙二酸盐            | +    | —    | +    | —    | —    | +    | —    | +    | —   | —                |
| 酒石酸盐            | +    | +    | +    | +    | +    | +    | —    | +    | +   | —                |

1) +: 阳性反应, —: 阴性反应; 2) 日本水稻上 10 个菌株的细菌学性状, 以 Goto(1979) 作为比较

### 2.2 致病性

水稻菌株和玉米菌株对马铃薯都有很强的致病力, 对于水稻植株, 玉米菌株的致病力较

弱, 只在叶鞘上产生褐色病斑; 对于玉米植株, 水稻菌株和玉米菌株都造成茎腐症状, 但水稻菌株的致病力较玉米强, 接种后 2 d, 在水稻上引起心叶青卷(青枯症状), 在玉米上形成黄褐色水渍状斑, 卷叶, 3 d 后接种部位软腐, 植株倒伏. Ech7 菌株出现症状时间最早, 发病最严重.

### 2.3 温度试验

水稻基腐病菌生长的最低温度为 12 ℃, 最高温度 41 ℃, 致死温度 53 ℃、10 min. 见表 2 病菌生长的适宜温度范围 28~36 ℃, 其中以 32 ℃最适; 见表 3.

表 2 水稻基腐菌株生长的最低、最高和致死温度试验<sup>1)</sup>

| 菌株   | $t_{\text{最低}}/^{\circ}\text{C}$ |    |    |    |    | $t_{\text{最高}}/^{\circ}\text{C}$ |    |    |    |    |    | $t_{\text{致死}}^{2)}/^{\circ}\text{C}$ |    |    |    |    |    |
|------|----------------------------------|----|----|----|----|----------------------------------|----|----|----|----|----|---------------------------------------|----|----|----|----|----|
|      | 5                                | 10 | 12 | 14 | 16 | 35                               | 37 | 39 | 41 | 42 | 43 | 40                                    | 45 | 50 | 52 | 53 | 54 |
| Ech4 | —                                | —  | +  | +  | +  | +                                | +  | +  | +  | —  | —  | +                                     | +  | +  | +  | +  | +  |
| Ech6 | —                                | —  | +  | +  | +  | +                                | +  | +  | +  | —  | —  | +                                     | +  | +  | +  | —  | —  |
| Ech8 | —                                | —  | +  | +  | +  | +                                | +  | +  | +  | —  | —  | +                                     | +  | +  | +  | —  | —  |

1) +: 表示生长, —: 表示不生长; 2) 10 min 测定

表 3 水稻基腐菌株最适温度试验<sup>1)</sup>

| 菌株   | $t/^{\circ}\text{C}$ |    |      |     |      |     |     |    |
|------|----------------------|----|------|-----|------|-----|-----|----|
|      | 24                   | 26 | 28   | 30  | 32   | 34  | 36  | 38 |
| Ech4 | +                    | ++ | ++++ | +++ | ++++ | +++ | +++ | ++ |
| Ech6 | +                    | ++ | +++  | +++ | ++++ | +++ | +++ | ++ |
| Ech8 | +                    | ++ | +++  | +++ | ++++ | +++ | +++ | ++ |

1) +: 生长较慢; ++: 生长一般; +++: 生长较好; ++++: 生长最好

### 2.4 pH 试验

病原菌生长的 pH 值范围较宽, pH5~11 均可生长, 以 pH 7 为最适, 见表 4.

表 4 不同 pH 值对水稻基腐菌株生长试验<sup>1)</sup>

| 菌株   | pH |    |     |    |    |
|------|----|----|-----|----|----|
|      | 3  | 5  | 7   | 9  | 11 |
| Ech4 | —  | ++ | +++ | ++ | +  |
| Ech6 | —  | ++ | +++ | ++ | +  |
| Ech8 | —  | ++ | +++ | ++ | +  |

1) —: 不生长; +: 生长较慢; ++: 生长一般; +++: 生长较好

## 3 讨论与结论

研究结果表明, 广东水稻上分离的基腐菌株, 其主要细菌学性状与王金生等(1984)和日本 Goto(1979)报道的水稻细菌性基腐病菌基本一致. 但在丙二酸盐和酒石酸盐的利用情况方面与上述两者的结果不完全一致, 王金生等(1984)报道的国内水稻 15 个基腐菌株的丙二酸盐利用均为阳性, 酒石酸盐利用均表现为迟缓反应; 日本报道的 10 个水稻基腐菌株在这两种盐的利用上均为阴性, 而广东菌株的丙二酸盐利用有 3 个菌株为阳性, 5 个菌株为阴性, 酒石酸盐利用有 7 个菌株阳性, 1 个菌株阴性. 说明广东水稻基腐菌株可能存在菌系的差异.

根据 Goto(1979; 1983)的研究, 水稻基腐病菌的细菌学性状与玉米上的菊欧氏菌株相同, 而且玉米上的菌株对水稻的致病性较弱, 由此认为水稻基腐病菌为菊欧氏杆菌玉米致病变种

*Erwinia chrysanthem* pv. *zeae*. 王金生等(1984)报道“我国水稻上的基腐细菌,其细菌学性状以及对水稻和玉米的致病性都与日本的相似”,但王金生等(1991)又认为“水稻基腐病菌符合建立一个新的致病变种的条件”,由于缺乏分子分类方面的证据,目前仍为玉米致病变种. 本研究对水稻和玉米菌株交叉接种试验的结果,也表明了广东水稻基腐菌株的致病性比玉米菌株强,与前人报道的这两种菌株的致病性结果相似,因此认为,广东水稻上新病害——水稻细菌性基腐病,其病原为菊欧氏杆菌玉米致病变种 *Erwinia chrysanthem* pv. *zeae*.

温度和 pH 值对水稻基腐病菌生长的关系,国内尚少见详细报道,姚革等(1994)只报道了水稻基腐病菌越冬与存活的最适温度 4~12 °C 和最适存活 pH 值(pH7). 本研究结果表明:水稻基腐病菌生长的最低温度为 12 °C,适宜温度范围 28~36 °C,其中以 32 °C 最适,最高温度 41 °C,致死温度 53 °C、10 min. 该病菌生长的 pH 值范围较宽(pH 5~11),其中以 pH7 最适宜.

本文结果将对研究水稻基腐病的流行、预测预报和病害的发生规律及防治具有重要指导意义和参考价值. 关于广东水稻基腐病菌菌系之间的差异,有待于进一步研究.

### 参 考 文 献

- 王金生, 韦忠民, 方中达. 1984. 水稻细菌性基腐病的病原及其致病性研究. 植物病理学报, 14(3): 130~133  
王金生, 杨晓云. 1991. 水稻基腐病细菌与玉米茎腐病细菌的比较研究. 植物病理学报, 21(3): 181~184  
方中达. 1979. 植病研究法. 北京: 农业出版社, 161~200  
刘琼光, 曾宪铭, 李伯传. 1997. 广东省水稻一种新病害——水稻细菌基腐病病原菌初步鉴定. 华南农业大学学报, 18(4): 128~129  
姚 革, 王金生, 方中达. 1994. 水稻细菌性基腐病的越冬与存活. 南京农业大学学报, 17(增刊): 58~62  
Cuppeis D A, Kelmen A. 1980. Isolation of Pectolytic fluorescent pseudomonas from soil and potatoes. Phytopathology 170: 1110~1115  
Goto M. 1979. Bacterial foot rot of rice caused by a strain of *Erwinia chrysanthemi*. Phytopathology, 69: 213~216  
Goto M. 1983. Nomenclature of the rice strain of *Erwinia chrysanthemi*, the causal agent of bacterial foot rot of rice. Ann Phytopath Soc Japan, 49: 576~579  
Schaad N W. 1988. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria. St Paul Minnesota: The American Phytopathology Society Press 44~55

## Pathogenicity and Biological Characters of *Erwinia chrysanthemi* pv. *zeae* in Guangdong Province

Liu Qiongguang    Zeng Xianming

(College of Natural Resources & Environment, South China Agric. Univ., Guangzhou, 510642)

**Abstract** A series of tests on the characters and pathogenicity of the causal agent of bacterial foot rot of rice in Guangdong Provinces was conducted. And the pathogenic bacteria were identified as *Erwinia chrysanthemi* pv. *zeae*. Their biological characters from the tests showed that the minimum, maximum and optimum growth temperature of the pathogens were 12, 41, 28~36 °C respectively. The lethal temperature for the pathogen was 53 °C, 10 minutes lasted. In addition, the pathogenic bacteria could grow from pH 5 to pH 11, and grow well at pH 7.

**Key words** *Erwinia chrysanthemi* pv. *zeae*; pathogenicity; biological characters

【责任编辑 张 砾】