

广东白肋烟新病害——黑腐病 病原细菌的鉴定

曾宪铭 黄清珠
(华南农业大学植保系, 510642, 广州)

摘要 在广东省乳源县白肋烟植株叶片上发现一种国内外尚未报道的新病害——黑腐病。病原细菌的主要细菌学性状和寄主范围试验结果表明,此病病原细菌是甘兰黑腐病黄单胞菌萝卜致病变种[*Xanthomonas campestris* pv. *raphani*(White)Dye]

关键词 烟草黑腐病菌

中图分类号 S432.42

1991年4月在广东省乳源县的白肋烟植株上采集到一种病害标本,其症状与已报道的烟草细菌性病害不同。为此,我们进行了病原细菌的鉴定试验。

1 症状

烟叶病部叶肉组织黄化,无固定边缘,叶脉呈褐色至黑褐色坏死,在主脉上坏死部位纵裂。感病烟叶组织在显微镜下可见大量细菌溢。

2 病原细菌的致病性试验

病原细菌的分离按常规方法(方中达,1979),经纯化得到纯菌种。把来自不同病叶的分离物分别定为烟菌株1号和2号。

致病性试验采用常规的针刺接种法(方中达,1979),将在30℃下培养24~48 h的烟菌株1号和2号培养物,配成 3×10^{11} 个细菌/L的菌液分别回接到白肋烟叶片上的主脉,侧脉和叶肉上。在自然情况下(广州5月份的天气),3~4天后即出现症状。接种的叶片主、侧脉变黑褐色坏死,坏死部位纵裂,接种的叶肉组织黄化。这些症状与自然发病的症状完全一致。从接种产生的病斑组织进行再分离,得到的再分离物和原来的分离物相同。

3 病原细菌的鉴定

3.1 材料和方法

病原细菌的染色反应和主要的生理生化性状等试验方法除尿酶活性,七叶灵水解和淀粉水解等按Lelliott& Stead(1987)的方法外,其他都根据Schaad(1988)的方法。所有的生理生化试验均以十字花科蔬菜黑腐病菌[*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*

1993-05-17收稿

(Pammel)Dowson)为对照菌,并设不接种的对照。

寄主范围试验采用离体接种法(Lucas, 1975),将烟草(*Nicotiana tabacum* L.)、辣椒(*Capsicum annuum* L.)、番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill)和茄(*Solanum melongena* L.)等茄科作物以及菜心(*Brassica parachinensis* Bail)、小白菜(*B. pekinensis* Rupr)、芥兰(*B. alboglabra* Bail)、芥菜(*B. juncea* (L.) Czern et. coss)和萝卜(*Raphanus sativus* L.)等十字花科蔬菜叶片冲洗干净后,以组织浸润法(Klement, 1963)将少量烟菌株1号和2号的菌液(3×10^{11} 个细菌/L)分别注射入各种作物叶肉组织中。接种后将叶片放湿盒中,并置25℃(±2℃)光照培养箱中,也以十字花科蔬菜黑腐病菌株为对照菌,并设清水对照。

3.2 试验结果

供试烟黑腐细菌,菌体短杆状,两端钝圆,大小为1.4~2.8 μm×0.7~0.91 μm。菌体多单生,间或对生,无链生。格兰氏染色反应阴性,单极鞭。

在酵母浸膏—葡萄糖—碳酸钙(YDC)培养基平板上,烟菌株1号和2号生长快,划线培养24 h后,在最后的划线区上出现单菌落。菌落圆形,初土黄色,后腊黄色,平展,中央稍隆起,边缘完整。培养3~4天后,菌落大小约3~4 mm。菌苔粘,但产生粘液较少。

主要生化性状试验结果表明,烟菌株1号和2号能迅速液化明胶,水解七叶灵,牛乳蛋白降解阳性,但不水解淀粉,能利用阿拉伯糖、葡萄糖、甘露糖和果糖产酸,不还原硝酸盐,尿酶活性阳性,接触酶阳性,氧化酶阴性。

寄主范围试验显示,接种2~3天后,烟菌株1号和2号在烟草、芥菜、小白菜、菜心、萝卜和芥兰等作物叶片的浸润区呈暗绿色,周围叶肉组织黄化,再往后叶脉变黑坏死,芥兰的症状发展较慢。这和十字花科蔬菜黑腐病菌株接种产生的症状相一致,但后者在烟叶上只引致叶肉黄化。在辣椒、番茄和茄等作物叶片上,烟菌株的浸润区水渍状,暗绿色,向四周组织扩展,叶肉组织变黑褐色至黑色,最后叶脉变黑坏死,而十字花科蔬菜黑腐病菌株只引致浸润区稍黄化,且不向四周组织扩展。清水对照的浸润区则恢复正常。

4 结论和讨论

从烟菌株1号和2号引致的症状和主要的细菌学性状的试验结果,显示烟菌株与参试的十字花科蔬菜黑腐病菌株十分接近。这些特征与 Berger's (Krieg et al, 1984) 中的甘兰黑腐病黄单胞菌 [*Xanthomonas campestris* (Pammel)Dowson] 的主要特征近乎一致(见表1)。因此,我们认为烟菌株就是甘兰黑腐病黄单胞菌中的一个菌株,由它引致的白肋烟叶片病害称为烟草黑腐病。

烟草黑腐病菌株在 YDC 培养基上的菌落特征与参试的十字花科蔬菜黑腐病菌株存在差异,烟菌株的菌落不象十字花科蔬菜黑腐病菌的菌落那么隆起,产生那么多粘液,但从它的主要细菌学性状来看,烟黑腐病菌仍应是甘兰黑腐病黄单胞菌的一个菌株。

寄主范围试验结果表明,烟黑腐病菌不仅能侵染菜心、小白菜、芥菜、芥兰和萝卜等十字花科蔬菜,也能侵染辣椒、番茄和茄等茄科蔬菜。根据 Berger's (Krieg et al, 1984) 的描述,甘兰黑腐病黄单胞菌萝卜致病变种 [*Xanthomonas campestris* pv. *raphani* (White)Dye] 的寄主范围为芸苔属和萝卜等十字花科蔬菜以及烟草、辣椒和番茄等茄科作物,但不包括茄子。尽管如此,我们仍认为烟黑腐病菌株应归属甘兰黑腐病黄单胞菌萝卜致病变种。

表1 烟黑腐病菌与十字花科蔬菜黑腐病菌主要细菌学性状比较

项 目	烟菌株 1 号	烟菌株 2 号	十字花科蔬菜 黑腐病菌	<i>Xanthomonas campestris</i> ⁽¹⁾
革兰氏染色反应	— ⁽²⁾	—	—	—
在 YDC 培养基上				
菌落粘稠	+ ⁽²⁾	+	+	+
黄色素产生	+	+	+	+
厌气生长	—	—	—	—
接触酶	+	+	+	+
氧化酶	—	—	—	—
尿酶活性	+	+	+	—
硝酸盐还原	—	—	—	—
将下列物质水解				
明胶	+	+	+	d
七叶灵	+	+	+	+
淀粉	—	—	+	d
利用下列物质产酸				
阿拉伯糖	+	+	+	+
葡萄糖	+	+	+	+
甘露糖	+	+	+	+
果糖	+	+	+	+
牛乳蛋白降解	+	+	+	+

(1) 材料引自 Berger's(1984)“+”90%以上菌株阳性;“—”90%以上菌株阴性;“d”11%~89%菌株阳性

(2)“+”阳性;“—”阴性

参 考 文 献

- 方中达. 1979. 植病研究方法. 北京:农业出版社,163,177
- Krieg N R, Holt J G. 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*; Vol. 1. 9th ed. Baltimore: The Williams and Wilkins Co., 205,209
- Klement Z. 1963. Rapid detection of the pathogenicity of phytopathogenic *Pseudomonas*. *Nature* 199:299~300
- Lelliott R A, Stead D E. 1987. *Methods for diagnosis of bacterial diseases of plant*. [s.l.]:Blackwell scientific publication,192~193,195
- Lucas G B. 1975. *Disease of tobacco*. 3th ed. North Carolina:Biological Consulting Associates,287
- Schaad N W. 1988. *Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria*. 2nd ed. Minnesota:APS Press,159

IDENTIFICATION ON THE PATHOGENIC BACTERIA OF A NEW TABACCO DISEASE-BLACK ROT

Zeng Xianming Huang Qingzhu

(Dept. of plant protection, South China Agr. Univ. 510642, Guangzhou)

Abstract A new bacterial disease, tobacco black rot was found for the first time in Ruyuan county Guangdong province. According to the studies on the major bacteriologic characteristics and host range of the pathogenic bacteria, the causal organism was identified to be an isolate of *Xanthomonas campestris* pv. *raphani* (White) Dye.

Key words *Xanthomonas campestris* pv. *raphani*; Tobacco black rot