

芜荑软腐病病原菌分离与鉴定

张立微,张景涛,李小梅

(哈尔滨市农业科学院,黑龙江 哈尔滨 150029)

摘要:为有效防治芜荑软腐病,提高其产质量,通过对引起芜荑腐烂而绝产的病害的病原菌进行分离、纯化,对19个菌株进行17项生理生化指标测定。结果表明:根据伯杰氏细菌鉴定手册(第八版)以Ecc为对照进行鉴定,确定E1(Ames24923)、E3(Ames24927)、E4(CORI107)、E7(CORI139)、E8(CORI140)、E10(CORI147)、E12(CORI289)、E13(CORI318)、E18(PI664510)为芜荑胡萝卜欧文氏杆菌属胡萝卜软腐欧文氏杆菌胡萝卜软腐病亚种(*Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*, Ecc) 细菌,而其余供试菌株通过测定可确定为细菌,但属何种还需进一步鉴定。

关键词:芜荑;软腐病;生理生化

中图分类号: 文献标识码:A 文章编号:1002-2767(2015)06-0048-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.06.0048

芜荑软腐病是芜荑栽培尤其是育种上的重要病害。植株受此病菌感染后,轻度影响产品质量,重度可使植株成片腐烂。目前有关软腐病病原研究大多在马铃薯、甘蓝、大白菜、胡萝卜等蔬菜作物上,而关于芜荑软腐病的研究很少。软腐病主要由软腐欧文氏菌引起,起主要作用的是 *Ecc*。通过文献检索,预备试验的观察,病原菌培养,基本可以确定芜荑软腐病病原菌是软腐欧文氏菌。本研究针对引进的芜荑在栽培中发生的软腐病进行病原菌鉴定,对染病植株进行病原分离纯化与鉴定研究,明确病原菌是否为 *Ecc*,为防治该病提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为2013年7~8月在哈尔滨市农业科学院作物研发基地芜荑育种棚内采集发病植株病样(见表1)。NA培养基为牛肉膏3 g、蛋白胨5~10 g、葡萄糖10 g、琼脂15~20 g、蒸馏水1 000 mL;pH7.2±0.2,温度为25℃。121℃灭菌20 min。

1.2 方法

1.2.1 病原菌的分离、纯化与保存 把预先配制好的NA培养基熔化倒入灭菌培养皿中,凝成平板,倒置放入30℃恒温箱中2~4 h,使其表面无

冷凝水<sup>[1]</sup>。

表 1 供试菌株及采集时间

Table 1 Strains and collected time

编号 No.	名称 Strains	采集时间 Time	编号 No.	名称 Strains	采集时间 Time
E1	Ames23623	2013年7月	E11	CORI28	2013年7月
E2	Ames23624	2013年8月	E12	CORI289	2013年7月
E3	Ames24927	2013年7月	E13	CORI318	2013年7月
E4	CORI107	2013年7月	E14	CORI36	2013年8月
E5	CORI137	2013年8月	E15	CORI42	2013年8月
E6	CORI138	2013年7月	E16	CORI82	2013年8月
E7	CORI139	2013年7月	E17	CORI86	2013年7月
E8	CORI140	2013年8月	E18	PI664510	2013年8月
E9	CORI142	2013年7月	E19	PI664512	2013年7月
E10	CORI147	2013年7月			

在NA培养基上采取划线分离法。取芜荑染病组织病健交界处,在超净工作台上切成小块,置于70%酒精中浸2~3 s,移入0.1%升汞中浸泡0.5~2.0 min,再用灭菌水冲洗3次,再将病组织放在加灭菌水无菌培养皿中,用灭菌玻璃棒研碎,让病组织碎块在灭菌水中浸泡20~60 min后,使细菌充分释放到灭菌水中,制成菌悬液,用灭菌接菌环蘸取菌悬液在干燥的培养基平板上划线分离,封口膜封口,倒置培养皿于28℃恒温箱中培养,1~3 d后观察菌落生长情况。每个病样3次重复。用接菌环挑取不同单菌落在NA培养基上进行3~5次纯化培养。最后一次于试管斜面培养,放入-20℃条件下密封保存菌株,用于致病性测定和病原菌的鉴定。

收稿日期:2014-10-08  
第一作者简介:张立微(1982-),女,黑龙江省绥化市人,硕士,农艺师,从事蔬菜遗传育种研究。E-mail:307832795@qq.com。  
通讯作者:张景涛(1963-),男,硕士,高级农艺师,从事蔬菜遗传育种研究。E-mail:702444364@qq.com。