

黑龙江省大豆细菌性斑点病病原菌的分离鉴定及 病害分布研究^{*}

王玉全¹, 李祥羽², 徐鹏飞³, 李文滨³, 赵世君³, 张大勇³, 韩英鹏³, 张淑珍^{3*}

(1. 黑龙江省宝清县职教中心, 宝清 155600; 2. 黑龙江省农科院作物育种所, 哈尔滨 150086; 3. 东北农业大学大豆研究所, 哈尔滨 150030)

摘要: 2002~2004年, 黑龙江省哈尔滨、宾县、牡丹江、绥化、佳木斯、黑河等地均有细菌性斑点病不同程度的发生, 其中在哈尔滨、牡丹江、绥化、佳木斯发病较重。针对黑龙江省大豆品种的细菌性病害情况, 通过对采集到的620份细菌病害叶片上的病原菌进行分离、纯化, 进行大豆回接致病性验证, 形态特征、染色反应以及生理生化鉴定, 确定有38个菌株为由假单胞杆菌引起的大豆细菌性斑点病。

关键词: 大豆细菌斑点病; 分离鉴定; 菌株

中图分类号: S 435.651 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2006)06-0034-02

Study on the Isolation and Identification of *Pseudomonas syringae* pv. *Glycinea* and Its Distribution in Heilongjiang Province

WANG Yu-quan¹, LI Xiang-yu², XU Peng-fei³, LI Wen-bin³, ZHAO Shi-jun³,
ZHANG Da-yong³, HAN Ying-peng³, ZHANG Shu-zhen^{3*}

(1. Vocational Education Center of Baoqing County, Baoqing 155600; 2. Crop Breeding Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086; 3. Soybean Research Institute of Northeast Agricultural University, Harbin 150030)

Abstract: The Soybean Bacterial Spot Disease caused by *Pseudomonas syringae* pv. *Glycinea* was very serious from 2002~2004 in Heilongjiang province. The disease occurred in Harbin, Bin county, Mudanjiang, Suihua, Jiamusi, Heihe, etc. Thereinto, the disease was relatively serious in Harbin, Mudanjiang, Suihua and Jiamusi. 38 strains of *Pseudomonas syringae* pv. *Glycinea* were obtained from 620 leaves of soybean varieties in Heilongjiang Province by way of pathogenicity, morphology, physiological and biochemical characters designation.

Key words: *Pseudomonas syringae* pv. *Glycinea*; isolation and identification; strain

近几年, 黑龙江省大豆细菌性病害发生严重, 导致产量损失和品质下降。细菌病害主要由以下三种病原菌引起: 大豆细菌性斑点病 (*Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*), 大豆细菌性野火病 (*P. syringae* pv. *Tabaci*) 和细菌性脓疱病 (*Xanthomonas campestris* pv. *Glycines*)。其中, 以 PSG 引起的大

豆细菌性斑点病发生最为普遍^[1]。目前为止, 对黑龙江省大豆细菌斑点病还未有较系统的研究报道。为了通过抗病育种及其它措施有效地控制细菌斑点病的发生, 我们于2002~2004年对黑龙江省大豆细菌斑点病进行了病原菌的分离鉴定及病害分布研究, 以期为病原菌的分子生物学、分子遗传学的研究

* 收稿日期: 2005-09-21

基金项目: 黑龙江省教育厅项目(10541026)

第一作者简介: 王玉全(1971-), 男, 黑龙江省宝清县人, 学士, 中学一级, 从事作物遗传育种研究。

通讯作者: 张淑珍, Tel: 0451-55191043.

奠定一定的理论基础,为培育抗性稳定的品种提供可靠的理论依据。

1 材料与方法

1.1 大豆细菌性病害发生情况调查及细菌斑点病标本采集

2002~2004年在大豆的生长季节,于哈尔滨、宾县、牡丹江、绥化、佳木斯、黑河等地田间调查了大豆细菌性病害发生情况。并在大豆品种上采集细菌性斑点病病叶,共采集到样本620份。

1.2 大豆细菌性斑点病菌菌株的分离及纯化

用平板划线分离法,在NBY培养基上对采集到的标本进行病原细菌分离:在无菌条件下,剪下病斑,用0.1% HgCl₂消毒1 min, 70%酒精消毒3 min, 无菌水冲洗4~5次,剪碎病斑,用接菌环蘸取菌液,在NBY培养基上划线。

1.3 病原菌的致病性测定

将品种长农4号(感病品种)播于培养钵中,每钵保留3株健苗。当真叶即将展开时,开始用培养24 h的新鲜菌种,采用针刺法接种后套上塑料袋保湿培养,于4 d后记录结果。参照Cross^[2]的标准:接种点呈水浸状,后出现枯死,周围有明显褪绿扩展区的菌株,可初步确定分离菌株对大豆有致病性。

1.4 分离菌的染色反应、形态特征及培养性状

革兰氏染色、荚膜染色、芽孢染色及培养特征观察参照方仲达的植病研究方法^[3]。

1.5 生理生化特征测定

生理生化特征测定参照方中达植病研究法^[3]。

2 结果与分析

2.1 大豆细菌性斑点病病害发生情况调查及标本采集

通过3年的调查分析,结果表明:大豆细菌性斑点病近几年在黑龙江省发生普遍。该病在哈尔滨、宾县、牡丹江、绥化、佳木斯、海伦、富锦、黑河等地均有不同程度的发生,其中在哈尔滨、牡丹江、绥化、佳木斯发病较重。该病原菌在大豆生育各时期均可侵染:带病种子表现为侵入点呈灰白色,周围有褐色油浸状扩展;子叶发病一般表现为病斑中央褐色,周围褪绿,呈水浸状;三出复叶发病表现为多角形水浸斑或褐色坏死斑,周围出现褪绿圈。在大豆品种上采集细菌性斑点病病叶,共计采集到样本620份。

2.2 大豆细菌性斑点病菌菌株的分离及纯化

用平板划线分离法,在NBY培养基上对采集到的标本进行病原细菌分离。同样,也用平板划线法,挑取单菌落,对所分离到的菌株进行3~4次纯

化。共分离到226个菌株。

2.3 病原菌的致病性测定

将从各地采样、分离、纯化的分离物用针刺法接种长农4号,参照Cross^[2]的感病鉴定方法,226个菌株中共鉴定出有典型大豆细菌性斑点病病症的有127个。

2.4 分离菌的染色反应、形态特征及培养性状

供试菌株经过革兰氏染色反应试验呈阴性,菌体短杆状,鞭毛1~4根,极生,有荚膜,无芽孢。NA平板上菌落乳白色,圆形,微突起,透明或半透明,KB培养基上产生荧光。经上述试验,127个菌株中共分离到56个具有典型大豆细菌性斑点病形态等特征的病原菌。

2.5 生理生化特征测定

通过测定供试菌株氧化酶阴性,马铃薯不腐烂,精氨酸双水解酶阴性,过氧化氢酶阳性,产氨阴性,不能液化明胶,不能还原硝酸盐,不水解淀粉,35℃能生长,37℃以上不能生长,适宜生长温度25~27℃。利用葡萄糖氧化产生酸,不发酵,都能利用蔗糖、甘露糖、半乳糖、肌醇、山梨糖、果糖和木糖。经过上述鉴定后,在56个菌株中得到38个分离菌株为丁香假单胞杆菌属的大豆细菌性斑点病的病原菌(*Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*)。

3 结论与讨论

3.1 大豆细菌性斑点病近几年在黑龙江省发生普遍。该病在哈尔滨、宾县、牡丹江、绥化、佳木斯、海伦、富锦、黑河等地均有不同程度的发生,其中在哈尔滨、牡丹江、绥化、佳木斯发病较重。

上述地区该病发生严重,有可能与当地主栽品种和气候有关,对于病害的流行规律还有待进一步的研究。

3.2 根据对供试菌株的致病性、染色反应、形态特征、培养性状以及生理生化特征测定,在采集到的620份病叶上分离到38个丁香假单胞杆菌属的大豆细菌性斑点病的病原菌(*Pseudomonas syringae* pv. *glycinea*)菌株。对38个菌株生理小种的鉴定以及黑龙江省优势生理小种的研究,还需进一步的试验。

参考文献:

- [1] 王国馨. 春大豆细菌性疫病初步研究[J]. 湖南农业科学, 1988, (4): 36-40.
- [2] Cross J E, Kennedy B W, Lambert J W, et al. Pathogenic races of the bacterial blight pathogen of soybeans *Pseudomonas glycinea* [J]. Plant Disease Reporter, 1996, (50): 557-560.
- [3] 方仲达. 植病研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1977.