

# 安徽省姜瘟病病原细菌鉴定及有效药剂筛选

陈莉, 高智谋, 杨自保, 丁祖明 (1. 安徽农业大学植保学院, 安徽合肥 230036; 2. 安徽省铜陵市农科所, 安徽铜陵 244000)

**摘要** 从安徽省姜主要种植区采集姜瘟病株, 分离纯化出 10 个姜瘟病菌菌株, 对其致病性、形态、染色反应、生理生化等性状和生产上常用药剂对病菌的毒力进行了测定。结果表明: 安徽省姜瘟病病原为茄罗尔氏菌 [*Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al], 以生物型 III 为主, 也有生物型 IV 分布。在供试的 8 种药剂中, 以 40% 爱诺·链宝对姜瘟病菌的抑制效果最好, 其次是 Kocide, 克菌康和菌鲨在较高浓度 (> 100 ng/L) 时也有一定的抑制作用, 根腐灵、速补、敌克松即使高浓度下对病菌仍无抑制作用。

**关键词** 姜瘟病菌; 生物型; 毒力测定

中图分类号 Q936 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)18-05479-01

## Identification of Pathogen Bacteria of Ginger Bacterial Wilt in Anhui Province and Screening of the Effective Bactericides

CHEN Li et al (College of Plant Protection, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036)

**Abstract** Ten strains of ginger bacterial wilt were separated and purified from the diseased plants collected from the main ginger-producing regions in Anhui province and their characters of pathogenicity, morphology, dyeing reflection, and physiological and biochemical properties and the toxicity of common bactericides to pathogen in production were determined. Results showed that the pathogens of ginger bacterial wilt belonged to *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi et al and divided into two biotypes, biotypes III and IV according to their ability of utilizing 3 sugars, 3 alcohols and dehydrogenation. Among 8 tested bactericides, the inhibitive effect of 40% Ainlianbao on pathogens of bacterial wilt of ginger was best, followed by Kocide, Kejunkang and Junsha, which had also certain inhibitive effect on the pathogenic bacterium under the high concentration (> 100 ng/L), while Genpuling, Shupu and Dkesong had no inhibitive effect against the pathogenic bacterium even under the high concentration.

**Key words** Ginger bacterial wilt; Biotype; Toxicity determination

生姜既是日常调味品, 又是常用中药材, 在安徽省有着悠久的栽培历史。姜瘟病是安徽省姜区生产上的重要病害之一, 严重影响生姜的产量和质量。据调查, 姜瘟病常年减产达 20%~30%, 重病年达 50%~70%, 局部地块甚至绝产<sup>[1]</sup>。为明确安徽省姜瘟病的病原, 筛选出有效的防治药剂, 笔者对安徽省生姜主要种植区姜瘟病菌种类鉴定及常用杀菌剂对姜瘟病菌的室内抑制作用进行了研究。

### 1 材料与方法

**1.1 供试菌株** 供试菌种从铜陵董店镇舒山村(1号)、东山村(2号), 临泉县大通民主村(3号)、天门镇天门村(4、5号)、大通民主村(6号)、天门镇新华村(7、8号), 铜陵董店镇(9、10号)采集具有典型症状的姜瘟病病株经分离纯化获得。对照菌株烟草青枯病(*Ralstonia solanacearum*) (11号)由南京农业大学病理教研室提供。

**1.2 致病性测定** 将上述分离纯化后的 10 个菌株在 NA 培养基上 28℃ 培养 36 h, 刮下菌苔制成菌悬液(浓度为  $10^8$  CFU/ml), 从下表皮注射入 10 叶龄心叶烟的叶片, 以注射灭菌水为对照, 24 h 后观察有无枯斑反应。

**1.3 细菌学性状观察** 参照方中达<sup>[2]</sup>和任欣正<sup>[3]</sup>的方法。

**1.4 生化型测定** 参照 Hayward 的方法<sup>[4]</sup>, 测定供试菌株对乳糖、麦芽糖、纤维二糖、甘露醇、山梨醇和卫矛醇的利用情况。

### 1.5 毒力测定

**1.5.1 供试药剂。** 根腐灵 70% 敌磺钠可溶性粉剂(重庆市嘉智生化有限公司); 20% 速补可湿性粉剂(西安克胜新依达农药有限公司); 53.8% Kocide(可杀得 2000) 干悬乳剂(美国固信公司); 爱诺·链宝可溶粉(华北制药集团爱诺有限公司); 3% 克菌康可湿性粉剂(厦门凯立生物制品有限公司); 55% 敌克松可湿性粉剂(上海威佳化工有限公司); 20% 菌鲨

超微可湿性粉剂(青岛金正农药有限公司); 康地蕾得(上海泽元海洋生物技术有限公司)。

**1.5.2 试验方法。** 采用抑菌圈法<sup>[5]</sup>。将在 NA 斜面培养基上培养 24 h 的供试菌株用灭菌水配成菌悬液(浓度约为  $10^8$  CFU/ml), 取 2 ml 加入已倒有 18 ml 灭菌 NA 培养基(冷却至 45℃ 左右)的培养皿(9 cm)中, 凝固后制成含菌平板。康地蕾得药水比 1:10 浸泡配成母液后, 稀释备用。其他将供试药剂配制成 10 000、5 000、1 000、500、100、50、10 ng/L 等一系列浓度的溶液用灭菌滤纸片(0.6 cm)蘸取药液放置于含菌 NA 平板培养基上, 每皿 3 片, 以灭菌水代替药液为对照, 2 次重复, 48 h 后测抑菌圈直径。

### 2 结果与分析

**2.1 致病性测定** 对采集的典型病株采用平板划线分离法获得 10 个菌株, 纯化后进行过敏性反应测定。供试菌株接种心叶烟, 24 h 后心叶烟均出现枯斑反应, 而清水对照则无枯斑反应。

#### 2.2 细菌学性状

**2.2.1 形态观察。** 供试菌株在 NA 培养基上 28℃ 培养 48 h, 菌落近圆形, 稍隆起, 颜色为乳白色, 表面湿润有光泽。在 KB 培养基上无荧光色素产生。采用结晶紫草铵染色法革兰氏染色反应阴性, 菌体为杆状。采用西萨-基尔法进行鞭毛染色, 鞭毛 1~3 根(多数为 1 根), 极生。

**2.2.2 生理生化反应。** 来自安徽省不同地区菌株的生理生化反应基本一致, 其生长的最适温度为 28~32℃, 低于 5℃ 和高于 40℃ 不能生长, 致死温度为 52℃, 10 min; pH 值 5.0~9.0 均能生长, 但以 pH 值 6.6~7.0 为最适; 耐盐力测定, 氯化钠浓度高于 1.8% 细菌不能生长。

对糖和其他碳素化合物的发酵试验观察到 30 d, 结果见表 1。由表 1 可见, 供试菌株与对照菌株对葡萄糖、果糖、蔗糖、半乳糖、阿拉伯糖、山梨糖、甘油和水杨酸均能利用, 对菊糖、鼠李糖和乙醇均不能利用。

基金项目 安徽省科技厅重点科研项目(03023025)。

作者简介 陈莉(1974-), 女, 安徽凤台人, 在读博士, 讲师, 从事植物病理学研究。

收稿日期 2007-04-12

(下转第 5516 页)

表1 供试菌株对糖和其他碳素化合物利用情况

| 菌株 | 葡萄糖 | 果糖 | 蔗糖 | 半乳糖 | 菊糖 | 阿拉伯糖 | 山梨糖 | 鼠李糖 | 甘油 | 乙醇 | 水杨酸 |
|----|-----|----|----|-----|----|------|-----|-----|----|----|-----|
| 1  | +   | +  | +  | +   | -  | +    | +   | -   | +  | -  | +   |
| 2  | +   | +  | +  | +   | -  | +    | +   | -   | +  | -  | +   |
| 3  | +   | +  | +  | +   | -  | +    | +   | -   | +  | -  | +   |
| 4  | +   | +  | +  | +   | -  | +    | +   | -   | +  | -  | +   |
| 5  | +   | +  | +  | +   | -  | +    | +   | -   | +  | -  | +   |
| 6  | +   | +  | +  | +   | -  | +    | +   | -   | +  | -  | +   |
| 7  | +   | +  | +  | +   | -  | +    | +   | -   | +  | -  | +   |
| 8  | +   | +  | +  | +   | -  | +    | +   | -   | +  | -  | +   |
| 9  | +   | +  | +  | +   | -  | +    | +   | -   | +  | -  | +   |
| 10 | +   | +  | +  | +   | -  | +    | +   | -   | +  | -  | +   |
| 11 | +   | +  | +  | +   | -  | +    | +   | -   | +  | -  | +   |

注：“+”表示可以利用，“-”表示不能利用。下表同。

生化测定试验除石蕊牛乳反应观察到28 d外,其他试验均观察到14 d。结果(表2)表明:安徽姜瘟病的分离菌与对照菌株的生化测定结果一致,能还原硝酸盐,产生氨气,并能使石蕊牛乳碱性胨化,氧化酶和接触酶反应均呈阳性。

表2 供试菌株的生化测定结果

| 菌株 | M | R | V | P | 硝酸盐还原 | 氨产生 | 硫化氢产生 | 明胶液化 | 吡啶产生 | 淀粉水解 | 氧化酶 | 接触酶 | 石蕊牛乳反应 |
|----|---|---|---|---|-------|-----|-------|------|------|------|-----|-----|--------|
| 1  | - | - | - | - | +     | +   | -     | -    | -    | -    | +   | +   | 碱性,胨化  |
| 2  | - | - | - | - | +     | +   | -     | -    | -    | -    | +   | +   | 碱性,胨化  |
| 3  | - | - | - | - | +     | +   | -     | -    | -    | -    | +   | +   | 碱性,胨化  |
| 4  | - | - | - | - | +     | +   | -     | -    | -    | -    | +   | +   | 碱性,胨化  |
| 5  | - | - | - | - | +     | +   | -     | -    | -    | -    | +   | +   | 碱性,胨化  |
| 6  | - | - | - | - | +     | +   | -     | -    | -    | -    | +   | +   | 碱性,胨化  |
| 7  | - | - | - | - | +     | +   | -     | -    | -    | -    | +   | +   | 碱性,胨化  |
| 8  | - | - | - | - | +     | +   | -     | -    | -    | -    | +   | +   | 碱性,胨化  |
| 9  | - | - | - | - | +     | +   | -     | -    | -    | -    | +   | +   | 碱性,胨化  |
| 10 | - | - | - | - | +     | +   | -     | -    | -    | -    | +   | +   | 碱性,胨化  |
| 11 | - | - | - | - | +     | +   | -     | -    | -    | -    | +   | +   | 碱性,胨化  |

**2.2.3 生物型。**根据 Hayward<sup>[4]</sup>划分生物型的标准,供试的10个安徽分离菌株中,除10号菌株能利用3种醇而不能利用3种双糖,属生物型外,其他菌株对3种糖和3种醇均能利用,为生物型。

**2.3 毒力测定** 室内毒力测定结果(表3)表明:在参试药剂中以爱诺·链宝对姜瘟病菌的抑制效果最好,浓度为50 ng/L时,对病菌生长也表现出一定的抑制作用,抑菌圈直径为0.90 cm。Kocide、克菌康、菌鲨在高浓度时对病菌的生

长有一定的抑制作用,但根腐灵、速补、敌克松即使在10 g/L的处理浓度下仍未出现抑菌圈,康地蕾得母液处理也未见有抑菌圈出现。

表3 不同药剂对姜瘟病菌的抑制作用

| 处理浓度<br>ng/L | 抑菌圈直径 cm |     |        |       |      |     |      |
|--------------|----------|-----|--------|-------|------|-----|------|
|              | 根腐灵      | 速补  | Kocide | 爱诺·链宝 | 克菌康  | 敌克松 | 菌鲨   |
| 10 000       | 0.6      | 0.6 | 2.6    | 1.95  | 1.27 | 0.6 | 1.12 |
| 5 000        | 0.6      | 0.6 | 2.0    | 1.80  | 1.08 | 0.6 | 0.90 |
| 1 000        | 0.6      | 0.6 | 0.8    | 1.55  | 0.88 | 0.6 | 0.60 |
| 500          | 0.6      | 0.6 | 0.6    | 1.47  | 0.75 | 0.6 | 0.60 |
| 100          | 0.6      | 0.6 | 0.6    | 1.10  | 0.6  | 0.6 | 0.60 |
| 50           | 0.6      | 0.6 | 0.6    | 0.90  | 0.6  | 0.6 | 0.60 |
| 10           | 0.6      | 0.6 | 0.6    | 0.60  | 0.6  | 0.6 | 0.60 |
| CK           | 0.6      | 0.6 | 0.6    | 0.60  | 0.6  | 0.6 | 0.60 |

注:表中抑菌圈直径均为6次重复的平均值;药碟直径为0.6 cm。

### 3 小结与讨论

(1)从安徽生姜主产区铜陵、临泉采集病株分离出10个姜瘟病菌菌株的形态、染色反应、生理生化等特性与对照菌株烟草青枯病菌表现完全一致,初步认定安徽省姜瘟病菌的主要病原为罗尔青枯菌[*Ralstonia solanacearum*(Smith) Yabuuchi et al]。

(2)生化测定结果表明,安徽姜瘟病菌以生物型为主,其次为生物型,这与承河元<sup>[6]</sup>的报道一致。但由于样品采集的限制,安徽姜瘟病菌有无其他生物型的存在仍需要进一步研究。

(3)该研究中的供试药剂在生产中对姜瘟病都有一定的防治效果,但毒力测定结果却表明,只有爱诺·链宝对姜瘟病菌的抑制效果较好,Kocide、克菌康、菌鲨在高浓度下有一定的抑制作用,根腐灵、速补、敌克松即使高浓度下对病菌仍无抑制作用。这是否与施药引起田间生态环境的改变有关有待于进一步研究。

### 参考文献

- [1] 杨自保,姚继贵,丁祖明.生姜姜瘟病发病因素与防止对策[J].长江蔬菜,2004(8):30-31.
- [2] 方中达.植物研究方法[M].3版.北京:中国农业出版社,1998.
- [3] 任欣正.植物病原细菌的分类与鉴定[M].北京:中国农业出版社,1994.
- [4] HAYWARD A C.Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*[J].Appl Bact, 1964,27:265-277.
- [5] 吴文君.植物化学保护实验技术指导[M].西安:陕西科技出版社,1984.
- [6] 承河元.安徽姜青枯假单胞菌生物型鉴定初报[J].安徽农业科学,1992,20(3):276-277.