

橘-芝麻套种模式下芝麻青枯病初侵染源分析

李信申¹, 黄小梅², 肖运萍³, 魏林根³, 黄瑞荣¹, 华菊玲^{1*}

(¹江西省农业科学院植物保护研究所,南昌 330200; ²江西生物科技职业学院,南昌 330200;

³江西省农业科学院土壤肥料与资源环境研究所,南昌 330200)

摘要:净作 11 年的橘园首次套种芝麻,发现园内芝麻青枯病发生严重。为探明芝麻青枯病初侵染源,本研究从芝麻青枯病株上分离到菌株 JXRs02,通过形态学、分子生物学以及聚类分析,鉴定其为青枯雷尔氏菌演化型 I。利用针刺接种法,将 JXRs02 菌株接种至柑橘园中的 4 种杂草凹头苋、青葙、空心莲子草以及加拿大蓬,发现 JXRs02 能够侵染凹头苋杂草,造成枯萎症状;LAMP 检测的结果显示,在凹头苋病株组织内能够检测到青枯雷尔氏菌。依据柯赫氏法则,利用分子生物学方法证明了对凹头苋杂草具有致病性的菌株和造成芝麻青枯症状的病原菌同为青枯雷尔氏菌演化型 I。同时发现,在凹头苋、青葙、空心莲子草和加拿大蓬 4 种杂草的根际土壤中芝麻青枯病菌均能够定殖繁衍。推测凹头苋杂草可能为芝麻青枯病菌的中间寄主,凹头苋、青葙、空心莲子草和加拿大蓬等杂草根际土壤积累的菌源可能为橘园套种芝麻后青枯病的初侵染来源。本研究对制定作物青枯病的防治策略具有一定科学意义。

关键词:芝麻青枯病;青枯雷尔氏菌;致病性;凹头苋;根际土壤

Analysis on initial infection sources of sesame bacterial wilt under the interplanting mode of citrus-sesame LI Xin-shen¹, HUANG Xiao-mei², XIAO Yun-ping³, WEI Lin-gen³, HUANG Rui-rong¹, HUA Ju-ling^{1*} (¹ Plant Protection Institute, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, China; ² Jiangxi Biological Vocational College, Nanchang 330200, China; ³ Soil and Fertilizer and Resources and Environment Institute, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, China)

Abstract: An outbreak of sesame bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* was observed after first interplanting of citrus-sesame in an 11-years old orange orchard. To investigate the original infection pathogen, a strain JXRs02 was screened from the tissues of sesame infected with *Ralstonia solanacearum*. By morphology, molecular biology, and cluster analysis, JXRs02 was identified as *R. solanacearum* phylotype I. Four kinds of weeds including *Amaranthus blitum*, *Alligator alternanthera*, *Feather cockscomb* and *Erigeron canadensis* appeared in the orange orchard were inoculated with strain JXRs02 by pin prick. The results showed that JXRs02 could infect and cause wilt symptoms in *Am. blitum*. And the pathogen in the infected tissues of *Am. blitum* was identified as *R. solanacearum* by Loop-mediated isothermal amplification (LAMP). According to Koch's postulates, the molecular biological methods were applied to verify that the pathogenic strains which are pathogenic to the *Am. blitum* or the pathogen causing the symptoms of sesame wilt are the *R. solanacearum* strains of phylotype I. Meanwhile, the results also showed that *R. solanacearum* isolated from the infected tissues of sesame could multiply in the rhizospheric soil of *Am. blitum*, *Al. alternanthera*, *F. cockscomb* and *E. canadensis*. These results

收稿日期: 2019-08-11; 修回日期: 2019-11-10; 网络出版时间: 2019-11-11

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2184.Q.20191111.1334.002.html>

基金项目: 国家自然科学基金项目(31360428); 江西省薯类产业技术体系建设专项(JXARS-19-病虫害防控岗位); 江西省支撑计划项目(20141BBF60016)

通讯作者: 华菊玲,学士,研究员,主要从事植物病害研究;E-mail:huajL2000@126.com

第一作者: 李信申,博士,助理研究员,主要从事植物病害研究;E-mail:lixinshen0@163.com。

indicated that *Am. blitum*, *Al. alternanthera*, *F. cockscomb* and *E. canadensis* may be the intermediate host of *R. solanacearum*, and the pathogen accumulated in its rhizospheric soil may be the primary source of *R. solanacearum* after citrus trees were interplanted with sesame cultivars. These data could provide scientific guidance on disease control strategies of bacterial wilt disease on crops.

Key words: sesame bacterial wilt; *Ralstonia solanacearum*; pathogenicity; *Amaranthus blitum*; Rhizospheric soil

中图分类号: S432.44

文献标识码: A

文章编号: 0412-0914(2020)03-0337-08

芝麻青枯病(Sesame bacterial wilt)是由青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*, *Rs*)引起的一种土传病害^[1]。青枯雷尔氏菌基因组由染色体(chromosome)和大质粒(megaplasmid)2个闭合环状复制子构成^[2]。这一特有的双环闭合结构,使得该病菌在与寄主长期协同进化的过程中,表现出广泛的生活及寄主适应性^[3,4],且存在潜伏侵染现象,田间杂草可作为潜伏的寄主^[5]。Dukes等^[6]报道在美国南佐治亚州新开垦的处女地,首次栽培的几种经济作物发生青枯病,将从中分离到的青枯雷尔氏菌接种到新垦地常见的曼陀罗(*Datura stramonium*,)、鬼针草(*Bidens bipinnata*)和龙葵(*Solanum nigrum*)等杂草上,均出现了枯萎症状。因此,推测引起青枯病的初侵染源可能来自带菌的杂草。此后,许多研究证实,杂草可作为青枯雷尔氏菌的中间寄主^[7,8],其根际土壤可作为病菌的庇护所,成为一种难以切断的侵染来源^[9]。

本研究发现净作11年的橘园,首次套种芝麻,盛花期时芝麻青枯病发病率高达26.35%。为了探明芝麻青枯病的初侵染源,从芝麻青枯病株中分离以及鉴定出了病原菌为青枯雷尔氏菌,利用接种法和分子生物学方法,按照柯赫氏法则进行操作,证明青枯雷尔氏菌能够侵染田间的凹头苋杂草,在杂草根际土壤中芝麻青枯病菌能够快速繁殖。这些研究对于揭示青枯雷尔氏菌的生态多样性具有十分重要的意义,同时为科学防控青枯病提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料与处理

套种芝麻橘园位于江西省万安县芙蓉镇(26°47'N, 114°78'E),海拔高度83米。套种芝麻品种为赣芝17,栽培密度折合净作约15万株·hm⁻²。供试杂草为凹头苋(*Amaranthus lividus* L.)、青葙(*Celosia argentea* L.)、加拿大蓬(*Erigeron canadensis* L. or *Conyza canadensis* L.)、空心莲子草(*Alternanthera philoxeroides* G.)。4种杂草种子(茎节)均来自上述橘园。供试菌株 *R. solanacearum* GMI1000为青枯雷尔氏菌模式菌株,由福建省农业科学院农业生物资源研究所提供。供试芝麻品种为BS86(感病品种)。试验用土为连续30年以上的稻田土(土壤理化性质见表1)。

1.2 橘园芝麻青枯病菌的分离与鉴定

从套种橘园采集芝麻病株,参照Hua等的方法^[1]分离菌株。选取1株芝麻代表菌株进行形态学鉴定。然后按照Fegan和Prior^[10]的报道进行演化型鉴定。即将所选菌株接种于蔗糖蛋白胨琼脂(SPA)培养基上,28°C过夜培养,收集菌体,运用细菌基因组DNA提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]提取菌株总DNA。采用根据ITS区序列设计的青枯病菌演化型鉴定引物 Nmult21:1F/Nmult22:RR、Nmult21:2F/Nmult22:RR、Nmult23:AF/Nmult22:RR 和 Nmult22:InF/Nmult22:RR^[10]进行PCR扩增,引物序列由生工生物工程(上海)

Table 1 Physical and chemical factors of soil samples

Soil	Organic matter /g·kg ⁻¹	Available N /mg·kg ⁻¹	Available P /mg·kg ⁻¹	Available K /mg·kg ⁻¹	Water content /%	pH
Paddy soil	50.25	179.61	24.36	92.75	18.42	5.9



Fig. 1 An outbreak of sesame bacterial wilt in an orange orchard in the interplanting pattern of citrus-sesame

A: An orchard with the interplanting of citrus-sesame; B: The wilt symptoms of sesame.

股份有限公司合成。参照 Li 等的方法^[11],以提取菌株总 DNA 为模板,采用 Endo-F 和 Endo-R 引物^[11]扩增菌株的内切葡聚糖酶(endoglucanase, Egl)基因序列,PCR 产物经 1 %琼脂糖凝胶电泳检测后,送往生工生物工程(上海)股份有限公司测序。利用 GenBank 核酸序列库进行 *Egl* 基因同源性比对分析。参照 She 等的方法^[12],运用 Mega 4.0 软件的 Neighbor-joining 法构建系统发育树。

1.3 青枯雷尔氏菌的致病性测定

1.3.1 芝麻青枯雷尔氏菌对杂草的致病性测定
稻田土装入塑料框,播种上述 4 种杂草(空心莲子草为茎节栽插)。于播种(栽插)后 30 d 左右(依据不同种类杂草的生长发育情况而定),采用针刺法,选取从套种橘园分离并经鉴定的芝麻青枯雷尔氏菌株接种于叶腋处,接种菌悬液浓度为 $3.21 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。每种杂草接种 12 株,3 次重复,以无菌水接种作为对照。接种后,置于 28℃ 温室,定期观察记录发病情况。对于发病植株,先采用青枯雷尔氏菌 LAMP 法快速检测^[13],然后进行柯赫氏法则验证,并选取从发病杂草分离获得的代表性菌株与接种杂草的菌株进行 *Egl* 基因同源性分析。

1.3.2 四头苋青枯雷尔氏菌对芝麻的致病性测定
采用土壤接种法,选择从针刺接种四头苋病株分离并经鉴定的青枯雷尔氏菌菌株,测定其对芝麻的致病性。接种菌悬液浓度为 $3.01 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$,与烘干后的稻田土按 1:100 的比例混匀,使土壤含菌量约为 $3.01 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ 。然后分装至各塑料桶,播种芝麻,并以无菌水接种作为对照。播种后,置于 28℃ 温室,定期观察记录发病情况。选取从接种发病的芝麻病株中分离获得的代表菌株与芝麻

接种菌株进行 *Egl* 基因同源性比对。

1.4 青枯雷尔氏菌在杂草根际土壤的定殖测定

将从套种橘园芝麻病株分离并经鉴定的菌株进行抗利福平诱导,获得抗利福平浓度 $300 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标记菌株。标记菌株摇床培养后配制成 $3.03 \times 10^3 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的菌悬液,与烘干后的稻田土按 1:100 的比例混匀,使土壤含菌量约为 $3.03 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$,之后分装至各塑料框,种植上述 4 种杂草,同时设不种植杂草的空白对照,3 次重复。播种后,置于 28℃ 温室。

于播种后 9 周采集根际土样。每个处理重复取 2 株植株,先刨去 0~1 cm 的表土,用灭菌小铲取作物根部及其周围土壤样品,抖掉大块和易脱落的土壤,收集附着在根系上的土壤作为根际土壤^[14],每株根际土单独装于无菌密封袋。同时取同等深度的空白对照土样。将每个重复的 2 份土样混合均匀,称取 5 g,加入无菌水定容稀释,150 r · min⁻¹ 摆床振荡 20 min,按梯度稀释一定倍数后,吸取 0.2~1 mL 涂布于含有利福平的 2,3,5-氯化三苯基四氮唑干酪素选择性培养基(简称 TZC) 平板上。30℃ 培养 48~72 h 后,计算各平板青枯雷尔氏菌的菌落数量,折算成每克干土菌量($\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1}$)。将土壤菌量转换成对数,运用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 橘园中芝麻青枯病菌的分离和鉴定

在栽种了 11 年的柑橘园中,首次套种芝麻,发现芝麻青枯病发生严重(图 1-A),出现整株青枯死

亡的现象(图 1-B)。从芝麻病株上分离得到的 4 株病菌,置于 TZC 平板上培养,菌株均呈现典型的青枯雷尔氏菌特征,即产生中央红色而外缘白色的不规则圆形菌落。选取代表性菌株 JXRs02 进行演化型鉴定,JXRs02 扩增出了与演化型 I 的模式菌株 GMI1000 一致的约 144 bp 的特异性 DNA 条带(图 2-A)。根据 Fegan 和 Prior 提出的青枯雷尔氏菌演化型分类方案^[10],推测 JXRs02 属于青枯雷尔氏菌亚洲分支菌株(演化型 I)。JXRs02 菌株

Egl 基因扩增及同源性分析表明,JXRs02 扩增出了 840 bp 左右的特异性条带(图 2-B),其 *Egl* 基因与 GMI1000 的 *Egl* 基因同源性为 99.51%。以 *Egl* 基因为目标基因,对 JXRs02 菌株和 25 个已公布全基因组序列的青枯雷尔氏菌株进行进化聚类分析,结果显示,JXRs02 与同为演化型 I 的 RSCM、CQPS-1、SEPPx05、YC45 和 Rs-10-244 菌株亲缘关系最近,与 KACC10709 亲缘关系最远(图 2-C)。

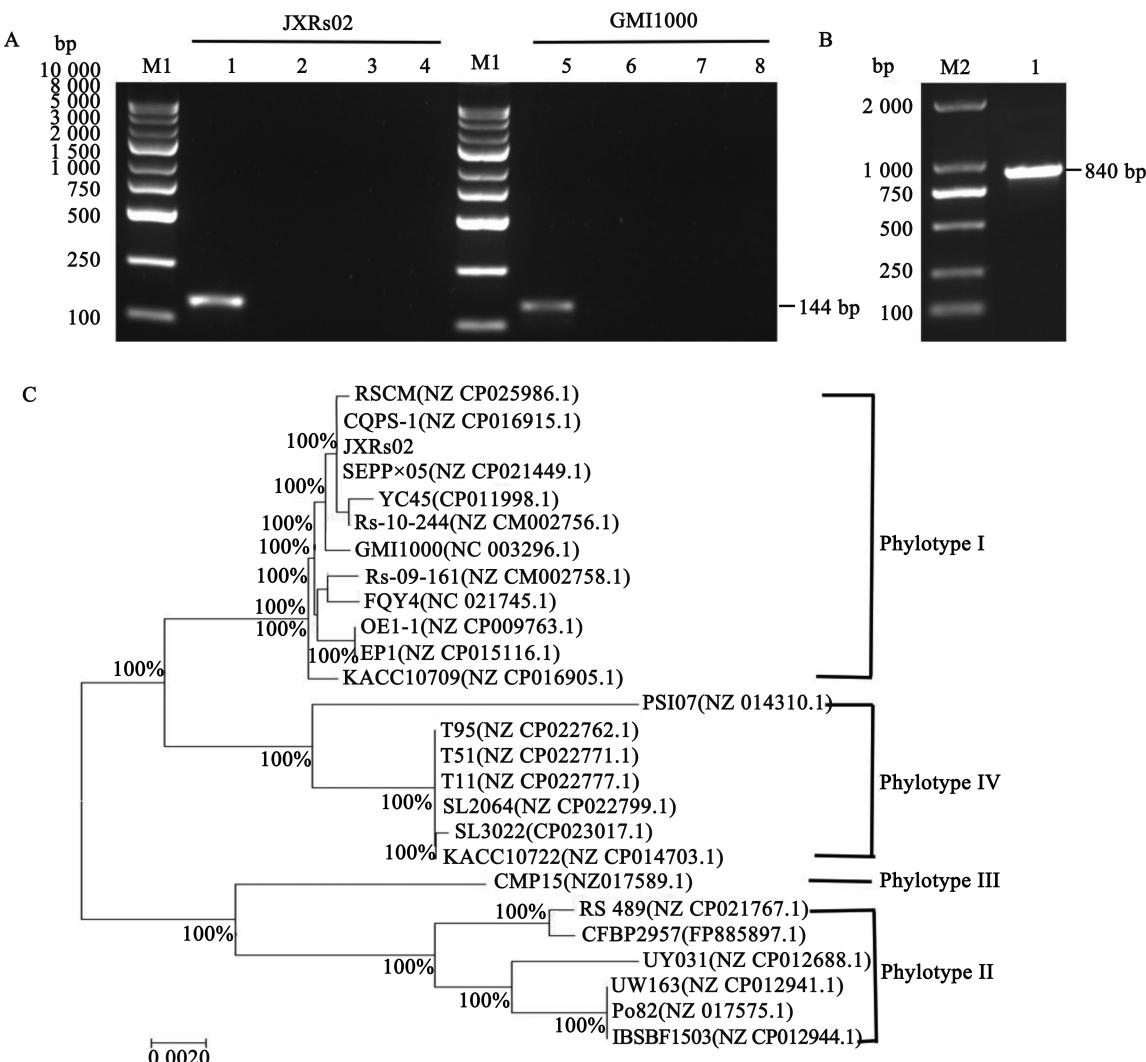


Fig. 2 Phylotype identification, amplification and phylogenetic analysis of strain JXRs02 isolated from sesame

A: Amplification of phylotype specific DNA fragment from *Ralstonia solanacearum*. 1: Uhylotype I /JXRs02; 2: Phylotype II /JXRs02; 3: Phylotype III/JXRs02; 4: Phylotype IV/JXRs02; 5: Phylotype I /GMI1000; 6: Phylotype II /GMI1000; 7: Phylotype III / GMI1000; 8: Phylotype IV/GMI1000; M1: DL10000 marker. B: Specific amplification of *Egl* gene from *R. solanacearum* strain JXRs02; M2: DL2000 marker; 1: Strain JXRs02. C: Phylogenetic analysis of *Egl* gene sequences from strain JXRs02 and other *R. solanacearum* strains.

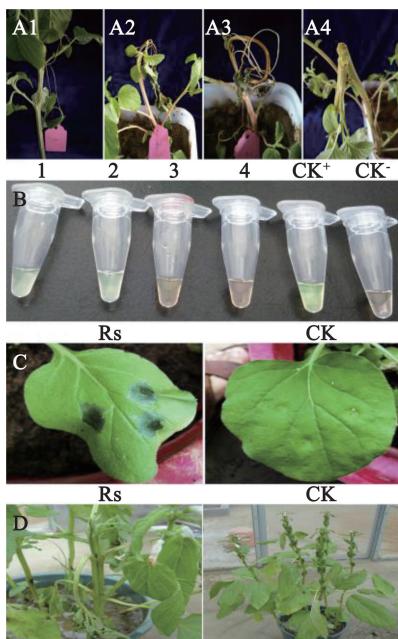


Fig. 3 Generation of different pathogenic symptoms, identification of *Ralstonia solanacearum* strain JXR02 using LAMP, and test of inoculation back to tobacco and sesame

A: The response of *Amaranthus lividus* infected with *R. solanacearum*. A1: Water stains; A2: Wilting; A3: Dry or go down; A4: Browning occurred in the vascular bundles; B: Detection results of *R. solanacearum* in the tissue of *A. lividus* by LAMP. 1: *A. lividus*/infection; 2: Sesame/infection; 3: *A. lividus*/healthy; 4: Sesame/healthy; CK⁺: *R. solanacearum*; CK⁻: H₂O control; C: HR observation on tobacco inoculated with *R. solanacearum* isolated from *A. lividus*; D: Disease symptoms on sesame inoculated with *R. solanacearum* isolated from *A. lividus*.

2.2 芝麻青枯病菌对凹头苋杂草的致病性测定

为了进一步探究芝麻青枯病的初侵染源,通过针刺接种法,将JXR02菌株接种柑橘园中的4种杂草凹头苋、青葙、空心莲子草以及加拿大蓬。结果显示,接种后的青葙、空心莲子草和加拿大蓬3种杂草均未出现青枯症状。但是,1 d后,在凹头苋的接种点出现了水渍状斑块;3 d后,植株出现了凋萎;5 d后,植株出现枯死(图3-A);11 d后,接种的36株植株全部枯死。切取发病部位,可见维管束褐变,置于无菌水中,可见乳白色菌脓流出。无菌水接种对照植株均未出现萎蔫,亦无褐变和菌

脓流出现象。进一步,利用LAMP快速检测法,发现以凹头苋病株组织提取液、芝麻病株组织提取液及青枯雷尔氏菌悬液为模板时,反应均呈现阳性(图3-B),以凹头苋健康植株组织提取液、芝麻健康植株组织提取液以及无菌水为模板时,反应呈现阴性(图3-B)。这表明,在凹头苋病株组织内能够检测到青枯雷尔氏菌。

根据柯赫氏法则,将凹头苋病株分离的菌株命名为JXR02-A1,将其在TZC培养基上进行培养,观察到与JXR02一致的菌落形态。再次接种凹头苋,也出现了与前述一致的青枯症状。同时,发现JXR02-A1具有青枯雷尔氏菌的特性,能够激发烟草的过敏性反应(图3-C)。对JXR02-A1的Egl基因进行PCR扩增,序列分析显示,其与JXR02的Egl基因同源性为100%。采用土壤接种法,将JXR02-A1接种至39株芝麻植株,其中35株芝麻出现典型的青枯病症状(图3-D)。将从接种后发病的芝麻病株分离获得的代表性菌株命名为JXR02-A1-S1,对JXR02-A1-S1的Egl基因进行PCR扩增,序列分析显示,其与JXR02-A1的Egl基因同源性为100%。综上所述,JXR02-A1、JXR02-A1-S1与JXR02为同一病原菌,造成芝麻青枯症状的病原菌对凹头苋杂草具有致病性,凹头苋可能为芝麻青枯病菌的中间寄主。

2.3 芝麻青枯病菌在杂草根际土壤中的定殖分析

为了探究芝麻青枯病菌是否能够在杂草根际土壤中定殖,将栽培土壤中芝麻青枯病菌JXR02的含菌量控制在 $3.03 \times 10^6 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$,分别种植凹头苋、青葙、空心莲子草、加拿大蓬4种杂草。杂草生长9周后,对其根际土壤的菌量进行分析,结果显示(图4),凹头苋、青葙、空心莲子草和加拿大蓬4种杂草根际土壤的菌量分别为 5.51×10^6 、 5.85×10^4 、 4.39×10^4 和 $8.58 \times 10^3 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$,统计显示,约为空白对照土壤菌量($9.79 \times 10^2 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$)的6000倍、64倍、48倍和9倍。这表明,芝麻青枯病菌能够在4种杂草的根际土壤中良好定殖,田间杂草可能作为芝麻青枯病菌的临时庇护所。而且,在凹头苋杂草的根际土壤中芝麻青枯病菌的繁殖显著好于其他3种杂草。

土壤接种试验中,4种杂草中的所有植株均未出现青枯病症状。

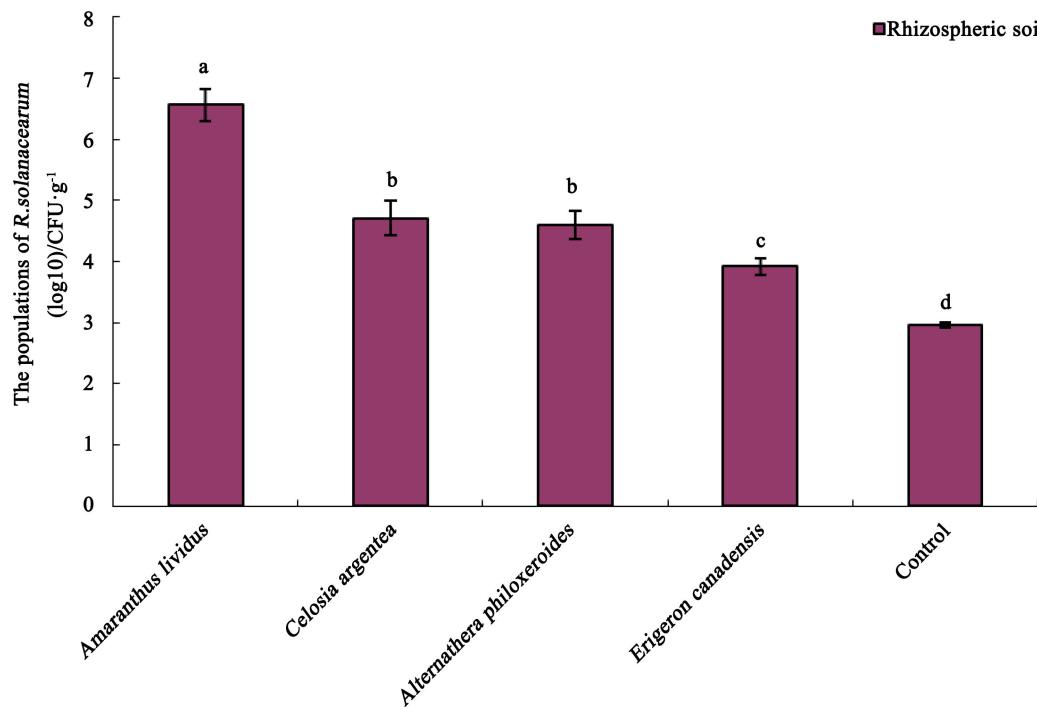


Fig. 4 The populations of *Ralstonia solanacearum* in rhizospheric soils of four kinds of weed at 9th week after sowing ($(\log_{10})/(\text{CFU} \cdot \text{g}^{-1} \text{ dry soil})$)

'a, b, c, d' means the significance of the difference. Different letters indicate a significant difference at the 5% level.

3 讨论

迄今为止,我国报道的青枯雷尔氏菌寄主植物达 90 多种^[15]。其中,既包含马铃薯、甘薯、花生、番茄、茄子、烟草、芝麻等表现典型症状的敏感寄主,也包括自然条件下不表现症状,人工接种发病的潜在寄主,如杜氏鼠尾草、曼陀罗、鸭趾草等^[7]。本研究首次报道,针刺接种,青枯雷尔氏菌能感染凹头苋。从针刺接种凹头苋病株分离的菌株 JXR02-A1 采用土壤法接种芝麻,植株发病率高达 89.74%。土壤接种,凹头苋植株没有出现青枯病症状,且其根际土壤菌量略低于前人报道的敏感寄主植株^[16,17],如花生^[16~18]、茄子^[19]等,但高于播种前土壤初始接种菌量。针刺接种和土壤接种,青葙、空心莲子草、加拿大蓬植株均未出现症状。然而,其根际土壤检测到青枯雷尔氏菌的大量存在。以上结果表示,凹头苋作为隐性寄主,为橘园土壤中青枯雷尔氏菌的大量繁衍提供了有利场所,而青葙、空心莲子草、加拿大蓬等的诱集作用,病菌得以随着杂草群落的更替完成有效的周年循环往复,从

而使得橘园土壤中青枯雷尔氏菌在长期缺乏敏感寄主的条件下,仍能持续维持较高且稳定的种群数量,成为芝麻青枯病的有效初侵染源。

对番茄、马铃薯等作物青枯病的研究发现,青枯雷尔氏菌量为 $10^4 \sim 10^7 \text{ CFU/g}$ 茎,植株并不表现青枯病症状,达到临界阈值 10^8 CFU/g 茎时,植株则出现萎蔫^[20,21]。Weibel 等^[22]报道,针刺接种大丽花(*Dahlia pinnata* Cav.)、凤仙花(*Impatiens balsamina* L.)、天竺葵(*Pelargonium hortorum*)等 3 种花卉,青枯雷尔氏菌量可达 10^8 CFU/g 茎以上,植株出现萎蔫症状;而土壤接种上述 3 种花卉,青枯雷尔氏菌量则为 $10^2 \sim 10^7 \text{ CFU/g}$ 茎,植株不表现青枯病症状。植株木质部导管中流动的液体为青枯雷尔氏菌的快速繁衍和迁移提供了得天独厚的条件^[16,17,23]。针刺接种,病菌通常可直接进入茎部的导管进行快速大量繁殖,进而堵塞导管,导致植株萎蔫^[21,23]。土壤接种,一方面由于根部土壤微生物菌系复杂,受其他微生物竞争的影响,减少了青枯雷尔氏菌在植物根部定殖的数量,而不敏感植物根际微生物影响尤为严重^[24];另一方面病菌受

到不敏感植物根部组织结构限制,难以穿过根部皮层、中柱、导管和维管束区,进入茎内导管^[25,26]。即便进入茎部导管,需要的时间长,且进入茎部病原菌数量也少,因而不表现症状。本研究中,针刺接种36株凹头苋全部发病枯死;而土壤接种,尽管凹头苋根际土壤检测到大量青枯雷尔菌的存在,但所接植株均未出现青枯病症状。接下来可进一步开展2种接种方法条件下,青枯雷尔菌在凹头苋植株内定殖繁衍的差异及机理研究。

由于芝麻播种前喷施了灭生性除草剂草甘膦,播后芽前施用乙草胺进行土壤封闭处理,芝麻生长期间园中以阔叶杂草居多。因此,本文选择凹头苋、青葙、空心莲子草和加拿大蓬4种优势阔叶草进行分析。但园中杂草种类多达10余种,包括狗尾草、马唐、牛筋草、双穗雀稗、苘麻、蒲公英、圆叶牵牛等。因此,其他杂草对维持园中土壤青枯雷尔氏菌种群稳定的作用有待于进一步分析。

凹头苋种子可随风等远距离传播,在中国各地广泛分布;空心莲子草属多年生宿根性杂草,作为外来入侵物种,生存能力极强,挤占其他植物生存空间;青葙和加拿大蓬土壤适应范围广,为我国田间常见杂草。凹头苋系青枯雷尔氏菌隐性寄主的发现,以及青葙、空心莲子草、加拿大蓬等对青枯雷尔氏菌具有诱集作用的验证,为制订清洁田园、减少杂草抢占生态位和初侵染源等科学防治策略提供了新的依据。

参考文献

- [1] Hua J L, Hu B S, Li X M, et al. Identification of the pathogen causing bacterial wilt of sesame and its biovars (in Chinese) [J]. Acta Phytopathologica Sinica(植物病理学报), 2012, 39(1): 39-44.
- [2] Salanoubat M, Genin S, Artiguenave F, et al. Genome sequence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* [J]. Nature, 2002, 415(6871): 497-502.
- [3] Xu J, Feng J. Advances in research of genetic diversity and pathogenome of *Ralstonia solanacearum* species complex (in Chinese) [J]. Scientia Agricultura Sinica(中国农业科学), 2013, 46(14): 2902-2909.
- [4] Li X S, Huang X M, Chen G Y, et al. Complete genome sequence of the sesame pathogen *Ralstonia solanacearum* strain SEPPX 05 [J]. Genes and Genomics, 2018, 40(6): 657-668.
- [5] Wicker E, Grassart L, Coranson-Beaudu R, et al. *Ralstonia solanacearum* strains from Martinique (French West Indies) exhibiting a new pathogenic potential [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 71(21): 6790-6801.
- [6] Dukes P D, Morton D J, Jenkins S F. Infection of indigenous hosts by *Pseudomonas solancearum* in south Georgia [J]. Phtopathology, 1965, 55(10): 1055.
- [7] Li P, Wu Y X, Mao Z C, et al. Identification of the potential new hosts of *Ralstonia solanacearum* and thinking of control strategies for bacterial wilt (in Chinese) [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin(中国农学通报), 2013, 29(6): 199-202.
- [8] Hayward A C. Biology and epidemiology of a bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* [J]. Annual Review of Phytopathology, 1991, 29(1): 65-87.
- [9] Fang S M, Gu G, Chen Y S, et al. Colonization and infection of *Ralstonia solanacearum* in weed roots (in Chinese) [J]. Acta Tabacaria Sinica(中国烟草学报), 2013, 19(5): 72-81, 88.
- [10] Fegan M, Prior P. How complex is the “*Ralstonia solanacearum* species complex?” in bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex [A]. Allen C, Prior P, Hayward A C. Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex [M]. St. Paul, MN, USA: American Phytopathology Society, 2015: 449-461.
- [11] Li Y, Feng J, Liu H, et al. Genetic diversity and pathogenicity of *Ralstonia solanacearum* causing tobacco bacterial wilt in China [J]. Plant Disease, 2016, 100(7): 1288-1296.
- [12] She X, He Z, Li H. Genetic structure and phylogenetic relationships of *Ralstonia solanacearum* strains from diverse origins in Guangdong Province, China [J]. Journal of Phytopathology, 2018, 166(3): 177-186.
- [13] Huang W, Xu J, Zhang H, et al. Development of a LAMP approach for detection of *Ralstonia solanacearum* (in Chinese) [J]. Scientia Agricultura Sinica(中国农业科学), 2016, 49(11): 2093-2102.
- [14] Hua J L, Liu G R, Huang J S. Effect of continuous cropping of sesame on rhizospheric microbial communities (in Chinese) [J]. Acta Ecologica Sinica(生态学报), 2012, 32(9): 2936-2942.

- [15] Jiang G F, Wei Z, Xu J, et al. Bacterial wilt in China: history, current status, and future perspectives [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017-09-11. <http://doi.org/10.3389/fpls.2017.01549>.
- [16] Caldwell D, Kim B S, Iyer-Pascuzzi A S. *Ralstonia solanacearum* differentially colonizes roots of resistant and susceptible tomato plants [J]. *Phytopathology*, 2017, 107(5): 528-536. <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-09-16-0353-R>.
- [17] Lowe-Power T M, Khokhani D, Allen C. How *Ralstonia solanacearum* exploits and thrives in the flowing plant xylem environment [J]. *Trend in Microbiology*, 2018-06 (on line) <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.06.002>.
- [18] Liu B, Lin Y Z, Zhu Y J, et al. Study on polymorphism of *Ralstonia solanacearum* (in Chinese) [M]. Fuzhou: Fujian Science & Technology Publishing House (福州:福建科学技术出版社), 2005.
- [19] Liu B, Zhu Y J, Lin K M, et al. Study on numerical and pathogenic variations of *Ralstonia solanacearum* distributed within the tissue of host plants (in Chinese) [J]. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2007, 40(7): 1559-1566.
- [20] Huang Q, Allen C. Polygalacturonases are required for rapid colonization and full virulence of *Ralstonia solanacearum* on tomato plants [J]. *Physiological & Molecular Plant Pathology*, 2000, 57(2): 77-83.
- [21] Grimault V, Prior P. Bacterial wilt resistance in tomato associated with tolerance of vascular tissues to *Pseudomonas solanacearum* [J]. *Plant Pathology*, 1993, 42(4): 589-594.
- [22] Weibel J, Tran T M, Bocsanczy A M, et al. A *Ralstonia solanacearum* strain from Guatemala infects diverse flower crops, including new asymptomatic hosts vinca and sutera, and causes symptoms in geranium, mandevilla vine, and new host African daisy [J]. *Plant Health Progress*, 2016, 17(2): 114-121.
- [23] Windt C W, Vergeldt F J, DeJager P A. MRI of long-distance water transport: a comparison of the phloem and xylem flow characteristics and dynamics in poplar, castor bean, tomato and tobacco [J]. *Plant Cell and Environment*, 2006, 29(9): 1715-1729.
- [24] Kwak M J, Kong H G, Choi K, et al. Rhizosphere microbiome structure alters to enable wilt resistance in tomato [J]. *Nature Biotechnology*, 2018, 36(11): 1100-1109.
- [25] Saile E, McGravey J A, Schell M A, et al. Role of extracellular polysaccharide and endoglucanase in root invasion and colonization of tomato plants by *Ralstonia solanacearum* [J]. *Phytopathology*, 1997, 87(12): 1264-1271.
- [26] Hawes, M, Allen C, Turgeon B G, et al. Root border cells and their role in plant defense [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2016, 54: 143-161.

责任编辑:曾晓蕊