

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2014.04.020

马健尧,李焕秀,李立佼,等. 番茄青枯雷尔氏菌强致病力菌株变异的研究[J]. 广西植物,2014,34(4):530—534

Ma JY, Li HX, Li LJ, et al. Variation of virulent strains of *Ralstonia solanacearum* isolated from tomato[J]. *Guihaia*, 2014, 34(4): 530—534

番茄青枯雷尔氏菌强致病力菌株变异的研究

马健尧, 李焕秀*, 李立佼, 谭华强, 张莉, 铁曼曼

(四川农业大学园艺学院, 四川雅安 625014)

摘要: 为研究番茄青枯雷尔氏菌强致病力菌株的变异,探索了继代培养、在 NB 培养基上不同时间培养、不同 pH 处理 7 d 和 15 d、不同温度处理 1 h 后对强致病力菌株变异的影响。结果表明:随着继代培养的培养代数增加,平均弱化指数成增大趋势,在第 10 代出现了无致病力菌株;在 NB 培养基上培养 15 d 时,强致病力菌株已完全转化为不确定菌株和无致病力菌株,在培养 30 d 时,强致病力菌株几乎完全转化为无致病菌株; pH 7.0 时,处理 7 d 和 15 d 后,强致病力菌株比例均为最大,分别为 93.33% 和 92.22%, pH 5.8 时,强致病力菌株比例最低,分别为 46.67% 和 31.11%;用不同温度处理强致病力菌株发现,温度 50 °C 时,菌株死亡,温度 40 °C 时,活菌数显著低于其他(4~30 °C)处理,强致病力菌株比例为 4~40 °C 所有处理中最低。

关键词: 青枯雷尔氏菌; 强致病力菌株; 无致病力菌株; 弱化指数

中图分类号: S436 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2014)04-0530-05

Variation of virulent strains of *Ralstonia solanacearum* isolated from tomato

MA Jian-Yao, LI Huan-Xiu*, LI Li-Jiao, TAN Hua-Qiang,
ZHANG Li, TIE Man-Man

(College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract: In order to study the variation of *Ralstonia solanacearum* virulent strains isolated from tomato, the influence of subculture times, different culture time on NB medium, different pH in 7 d and 15 d treatments, 1 h treatment at different temperatures on the variation of virulent strains were investigated. The results showed that the average attenuation index raised with the increasing of subculture generation, and avirulent strain appeared in the tenth generation. Virulent strains had been completely transformed to uncertain virulent strains and avirulent strains after 15 d on NB medium, and then almost became avirulent strains after 30 d. Virulent strains accounted for the largest proportion after 7 d and 15 d cultivation under pH 7.0, the rates were 93.33%, 92.22% respectively. On the contrary, virulent strains occupied the least proportion under pH 5.8 with the percentage of 46.67%, 31.11% respectively. When virulent strains were treated by the different temperatures, the strains dead at 50 °C. And when the temperature was 40 °C, the number of live strains was significantly lower and the virulent strains were at lower ratio than any other temperature (4—30 °C).

Key words: *Ralstonia solanacearum*; virulent strains; avirulent strains; attenuation index

番茄青枯病是一种细菌性病害,由番茄青枯病菌(*Ralstonia solanacearum*)引起的一种土传性维管束病害,会造成毁灭性灾害,严重影响番茄生产

(肖焯等,2007)。青枯菌的致病性存在差异,通过 Co⁶⁰ 辐射、紫外光诱变、转座子 Tn5 诱变及自发突变体等途径将致病菌株转化为无致病菌株,并用无

收稿日期: 2013-11-04 修回日期: 2014-01-08

基金项目: 四川省科技厅科技支撑项目(2010-2013, 2011NZ0014); 四川农业大学双支计划项目(2012-2014, 03570223)。

作者简介: 马健尧(1987-), 男, 四川德阳人, 硕士, 研究方向为蔬菜病害及生物防治, (E-mail) 602107484@qq.com。

*通讯作者: 李焕秀, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事蔬菜栽培生理和生物技术研究, (E-mail) 479942014@qq.com。

致病菌株处理番茄苗能在一定程度上起到防治青枯病的作用(Trigalet *et al.*, 1990; 康耀卫等, 1995; 程本亮, 2010; 董春等, 1999)。青枯雷尔氏菌在人工培养的条件下易发生突变, 产生致病性的丧失。张长龄等(1993)将芝麻和花生青枯雷尔氏菌强致病力菌株 Ss1 和 P9 分别在斜面每隔 2 d 移植一次, 连续 5 次后, 在 TTC 培养基上菌落已 100% 呈红色, 变成无致病力菌株或弱致病力菌株。弱化指数的构建, 确定弱化指数作为致病性指标的范围, 简化了青枯雷尔氏菌致病性变化的测定, 为致病性研究提供了量化指标(刘波等, 2004)。青枯雷尔氏菌在不同寄主、不同发病状态、不同生育期植株体内的分布及致病力呈现明显的生态位分化的特征(刘波等, 2007)。在感青枯病的辣椒和马铃薯中分离的青枯雷尔氏菌具有相同的基因, 且这种基因决定其侵染能力(Yeonhwa *et al.*, 2011)。本文在前人研究基础上, 通过继代培养、在 NB 培养基上不同时间培养、不同 pH 处理、不同温度处理, 研究了强致病力菌株的存活和变异的情况及弱化指数, 为进一步研究青枯菌的致病性变化提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试强致病力菌株在四川农业大学雅安校区农场园艺系试验田从番茄青枯病发病植株上分离获得, 编号 CN120612-03。平板培养基为 TTC 培养基, 液体培养基为 NB 培养基。摇床采用恒温立式振荡器 HQL150C(武汉中科科仪技术发展有限责任公司生产)。恒温培养箱采用隔水式恒温培养箱 GNP-9080 型(上海三发科学仪器有限公司生产)。紫外分光光度计为 UV-1600 型紫外可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司生产)。冷冻离心机为 Centrifuge 5804R(ependorf 公司生产)。

1.2 方 法

1.2.1 青枯雷尔氏菌弱化指数 弱化指数=雷尔氏菌单菌落的红斑直径/雷尔氏菌单菌落的总直径。其中 <0.60 的菌株为强致病力菌株, >0.80 菌株为无致病力菌株, 介于 $0.60\sim 0.80$ 之间的菌株致病性为不确定性(刘波, 2007)。

1.2.2 继代培养对强致病力菌株转化的影响 将强致病力菌株用 TTC 培养基活化后, 用接种环挑取一环放入 NB 培养基, 装液量为 50 mL, 置 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 恒

温摇床 $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养, 1 代培养 24 h, $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心, 弃上清, 加入无菌水, 用稀释平板法, TTC 培养基上 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h, 随机挑取 30 个单菌落, 观察菌落形态, 分别测定弱化指数。每 24 h 转代一次, 以此类推, 直到第 10 代, 比较各代弱化指数和不同致病性菌株在菌落中的比例变化。

1.2.3 NB 培养基不同时间培养对强致病力菌株转化的影响 将强致病力菌株用 TTC 培养基活化后, 每处理用接种环挑取一环放入 NB 培养基中, 装液量为 50 mL, 置 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 恒温摇床 $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 分别培养 2、3、5、7、10、15、20、30 d 后取出, $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心, 弃上清, 加入无菌水, 用稀释平板法, TTC 培养基 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h, 每处理随机挑取 30 个单菌落, 观察菌落形态, 分别测定弱化指数。

1.2.4 不同 pH 处理对强致病力菌株转化的影响 将供试强致病力菌株用 TTC 培养基活化后, 用接种环挑取一环放入 NB 培养基, 装液量为 50 mL, 置 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 恒温摇床 $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养 24 h 后, $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心, 弃上清, 用不同 pH 的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 磷酸缓冲液(pH 为 5.8、6.2、6.6、7.0、7.4、7.8)分别将菌株调浓度至 $6\times 10^8\text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$, 置于室温下($20\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$)保存 7、15 d 后, 采用稀释平板法, TTC 培养基上 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h, 统计各处理的青枯雷尔氏菌的活菌数, 同时每个处理随机挑取 30 个单菌落, 观察菌落形态, 分别测定弱化指数。

1.2.5 不同温度处理对强致病力菌株转化的影响 将供试强致病力菌株用 TTC 培养基活化后, 用接种环挑取一环放入 NB 培养基中, 装液量为 50 mL, 置 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 恒温摇床 $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养 24 h 后, $20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心, 弃上清, 用无菌水分别将菌株调浓度至 $6\times 10^8\text{ cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$, 进行不同温度(4、10、20、30、40、50 $^{\circ}\text{C}$)处理 1 h 后, 采用稀释平板法, TTC 培养基上 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h, 统计各处理的青枯雷尔氏菌的活菌数, 同时每个处理随机挑取 30 个单菌落, 观察菌落形态, 分别测定弱化指数。

1.3 数 据 统 计 分 析

采用 SPSS19.0 和 Excel 2010 进行数据统计分析。实验结果进行相关分析以及邓肯检验。

2 结 果 与 分 析

2.1 继代培养对强致病力菌株转化的影响

表 1 结果表明, 随着继代培养次数的增加, 青枯

雷尔氏菌菌落中强致病力菌株比例逐渐下降, 不确定菌株比例逐渐上升, 继代培养第 6 代时, 强致病力菌株比例从 82.22% 降到 63.33%, 继代培养第 7 代时, 强致病力菌株比例从 63.33% 降到 35.56%, 不确定菌株比例从 36.67% 升高到 64.44%, 第 10 代时出现了无致病力菌株, 此时强致病力菌株比例为 5.56%。从总体上看, 随着继代培养代数增加, 平均弱化指数成增大趋势, 两者成正相关 ($r = 0.918$)。继代培养 1~3 代时, 强致病力菌株比例与不确定菌株比例均无显著性差异 ($P > 0.05$), 继代培养 4~10 代时强致病力菌株比例与不确定菌株比例均存在显著性差异 ($P < 0.05$), 无致病力菌株比例在第 10 代时显著高于其他代次 ($P < 0.05$)。

表 1 继代培养对青枯雷尔氏菌 CN120612-03 转化的影响

Table 1 Effect of subculture on transformation of *Ralstonia solanacearum* strain CN120612-03

培养代次 Generation	强致病力 菌株比例 Percentage of virulent strain (%)	不确定菌株 比例 Percentage of uncertain virulence strain (%)	无致病力 菌株比例 Percentage of avirulent strain (%)	平均弱化指数 Average of attenuation index
1	100.00a	0.00h	0.00b	0.5254c
2	100.00a	0.00h	0.00b	0.5207c
3	98.89a	1.11h	0.00b	0.5170c
4	91.11b	8.89g	0.00b	0.5431bcd
5	82.22c	17.78f	0.00b	0.5233cd
6	63.33d	36.67e	0.00b	0.5802abcd
7	35.56e	64.44d	0.00b	0.6207abc
8	21.11f	78.89c	0.00b	0.6164abc
9	10.00g	90.00a	0.00b	0.6597ab
10	5.56h	83.33b	11.11a	0.7079a

注: 小写字母不同表示差异达显著水平 ($P < 0.05$)。下同。

Note: Different small letters show significantly ($P < 0.05$) differences in above table. The same below.

2.2 不同时间培养对强致病力菌株转化的影响

由表 2 可知, 随着培养天数增加, 强致病力菌株比例逐渐下降, 不确定菌株比例先升高后降低, 培养 5 d 时, 强致病力菌株比例从 86.67% 下降到 25.56%, 不确定菌株比例从 13.33% 增加到 74.44%, 培养 7 d 时, 出现了无致病力菌株, 培养到 15 d 时, 强致病力菌株比例降至 0%, 培养 30 d 时, 几乎所有菌株都转化为无致病力菌株。随着培养时间的增加, 平均弱化指数成增大趋势, 在 NB 培养基上连续培养天数与平均弱化指数成正相关 ($r = 0.880$), 平均弱化指数差异显著 ($P < 0.05$)。培养 2、3、5、7、10 d 均在强致病力菌株比例和不确定菌株比例上差异显著 ($P < 0.05$), 培养 7、10、15、20、30 d 无致病力菌株比例差异显著 ($P < 0.05$)。

表 2 在 NB 培养基上不同时间培养对青枯雷尔氏菌 CN120612-03 转化的影响

Table 2 Effect of culture time on transformation of *Ralstonia solanacearum* strain CN120612-03 in NB medium

培养天数 Culture day (d)	强致病力 菌株比例 Percentage of virulent strain (%)	不确定菌 株比例 Percentage of uncertain virulence strain (%)	无致病力 菌株比例 Percentage of avirulent strain (%)	平均弱化 指数 Average of attenuation index
2	100.00a	0.00f	0.00f	0.5236h
3	86.67b	13.33e	0.00f	0.5383g
5	25.56c	74.44a	0.00f	0.6268f
7	16.67d	61.11b	22.22e	0.6655e
10	4.44e	51.11c	44.44d	0.7462d
15	0.00f	30.00d	70.00c	0.7773c
20	0.00f	16.67e	83.33b	0.7989b
30	0.00f	1.11f	98.89a	0.8194a

2.3 不同 pH 处理对强致病力菌株转化的影响

由图 3 可知, 随着处理 pH 的增高, 强致病力菌株比例呈先增高后降低的趋势, pH7.0 时, 强致病力菌株比例最高。分别对不同 pH 处理 7 d 和 15 d 后不同致病力菌株比例进行相关性分析, 处理 7 d 时, 各不同 pH 处理与强致病力菌株比例和不确定菌株比例无相关性, 但与无致病力菌株比例成正相关 ($r = 0.793$)。表明在不同 pH 处理 7 d 情况下, 随着 pH 的增大, 无致病力菌株比例也随之增大。处理 15 d 时, 各 pH 与不同致病力菌株均无相关性。

在处理 7 d 条件下, pH7.0 和其他各 pH 处理后强致病力菌株比例呈显著性差异 ($P < 0.05$), 比例值最大, 为 93.33%; pH5.8 处理后, 强致病力菌株比例最小, 为 46.67%; 各 pH 处理与不确定菌株比例均无显著性差异 ($P > 0.05$); pH7.4、pH7.8 与其他各 pH 处理下无致病力菌株比例呈显著性差异 ($P < 0.05$), 比例值最大, 分别为 7.78% 和 10.00%。

在处理 15 d 条件下, 各 pH 处理强致病力菌株比例差异显著 ($P < 0.05$)。pH5.8 和 pH7.8 处理对无致病力菌株比例影响显著 ($P < 0.05$), 无致病力菌株比例分别为 16.67% 和 14.44%。

处理 7 d 和 15 d, 不同 pH 处理与平均弱化指数均无相关性。不同 pH 处理与平均弱化指数变化显著性分析表明, 培养 7 d, pH 5.8 与 pH7.8 处理下平均弱化指数显著高于其他各 pH 处理 ($P < 0.05$); 而 pH6.2、pH6.6、pH7.4 处理下的平均弱化指数间无差异 ($P > 0.05$); pH7.0 处理下的平均弱化指数显著低于其他所有 pH 处理 ($P < 0.05$); 培养 15 d, pH5.8 与 pH7.8 处理下平均弱化指数显著高于其

表 3 不同 pH 处理对青枯雷尔氏菌 CN120612-03 转化的影响

Table 3 Effect of different pH on transformation of *Ralstonia solanacearum* strain CN120612-03

不同 pH Different pH	处理天数 Treatment day (d)	活菌数 No. of bacterium (10^8 cfu \cdot mL $^{-1}$)	强致病力 菌株比例 Percentage of virulent strain (%)	不确定 菌株比例 Percentage of uncertain virulence strain (%)	无致病力 菌株比例 Percentage of avirulent strain (%)	平均弱化指数 Average of attenuation index
5.8	7	5.79 \pm 0.49a	46.67e	52.22a	1.11c	0.6063a
6.2	7	5.82 \pm 0.56a	70.00c	28.89a	1.11c	0.5757b
6.6	7	5.82 \pm 0.45a	84.44b	10.00a	5.56b	0.5653b
7.0	7	5.84 \pm 0.55a	93.33a	6.67a	0.00c	0.5319c
7.4	7	5.85 \pm 0.43a	82.22b	10.00a	7.78ab	0.5638b
7.8	7	5.82 \pm 0.33a	54.44d	35.56a	10.00a	0.6150a
5.8	15	5.75 \pm 0.27a	31.11f	52.22a	16.67a	0.6385a
6.2	15	5.80 \pm 0.35a	53.33d	43.33ab	3.34b	0.6088b
6.6	15	5.82 \pm 0.46a	82.22b	15.56cd	2.22b	0.5639c
7.0	15	5.83 \pm 0.58a	92.22a	7.78d	0.00b	0.5383d
7.4	15	5.85 \pm 0.63a	72.22c	24.45bcd	3.33b	0.5734c
7.8	15	5.82 \pm 0.27a	46.67e	38.89abc	14.44a	0.6454a

表 4 不同温度处理 1 h 对青枯雷尔氏菌 CN120612-03 转化的影响

Table 4 Effect of different temperatures on transformation of *Ralstonia solanacearum* strain CN120612-03

温度 Temperature ($^{\circ}$ C)	活菌数 No. of bacterium (10^8 cfu \cdot mL $^{-1}$)	强致病力菌株比例 Percentage of virulent strain (%)	不确定菌株比例 Percentage of uncertain virulence strain (%)	无致病力菌株比例 Percentage of avirulent strain (%)	平均弱化指数 Average of attenuation index
4	5.85 \pm 0.46a	90.00bc	6.67b	3.33ab	0.5522bc
10	5.84 \pm 0.49a	84.44c	10.00b	5.56a	0.5572b
20	5.88 \pm 0.35a	98.89a	1.11c	0.00b	0.5347c
30	5.86 \pm 0.48a	94.44ab	5.56b	0.00b	0.5466bc
40	4.89 \pm 0.57b	42.22d	56.67a	1.11b	0.6185a
50	0.00	—	—	—	—

他各 pH 处理($P < 0.05$); pH 6.2 处理下的平均弱化指数显著高于 pH 6.6、pH 7.0、pH 7.4 的处理($P < 0.05$); pH 7.0 处理下平均弱化指数显著低于其他所有 pH 处理($P < 0.05$)。

2.4 不同温度处理对强致病力菌株转化的影响

由表 4 可知, 温度 50 $^{\circ}$ C 时, 未观察到活菌。去除 50 $^{\circ}$ C 进行单因素方差分析, 40 $^{\circ}$ C 处理下的活菌数显著低于其他温度的活菌数, 表明在 40 $^{\circ}$ C 下, 已有菌株死亡。各温度处理与强致病力菌株比例以及不确定菌株比例均无相关性, 而与弱致病力菌株比例成负相关($r = -0.522$)。不同温度处理与平均弱化指数成正相关($r = 0.581$)。40 $^{\circ}$ C 处理下强致病力菌株比例显著低于其他温度(0~30 $^{\circ}$ C)处理($P < 0.05$); 40 $^{\circ}$ C 处理下不确定菌株比例显著高于其他温度处理($P < 0.05$), 而 20 $^{\circ}$ C 处理下不确定菌株比例显著低于其他温度处理($P < 0.05$), 温度为 4、10、30 $^{\circ}$ C 处理下的不确定菌株比例无显著差异($P > 0.05$); 10 $^{\circ}$ C 处理下无致病力菌株比例显著高于 20、30、40 $^{\circ}$ C 处理($P < 0.05$), 但与 4 $^{\circ}$ C 处理无显著性差异($P > 0.05$)。

3 讨论与结论

刘波等(2004)研究发现, 继代培养第 15 代时, 所有强致病力菌株几乎都转化为无致病力菌株; TTC 液体培养 1~5 d 对强致病菌株无致弱作用; 农用链霉素和超声波处理均无致弱作用。本研究发现, 随着继代培养代数的增加强致病菌株比例逐渐降低, 不确定菌株比例逐渐增大, 直到第 10 代, 出现了无致病力菌株; 在 NB 培养基上培养 7 d 时, 出现了无致病力菌株, 培养 15 d 时, 已无强致病力菌株, 培养 30 d 时, 无致病力菌株比例达 98.89%。

葛芸英等(2001)研究发现, 保存 6 a 后, 在 pH 为 4.0、5.8、6.5 的保存液中未检测到活菌, 在 pH 6.8、7.0、8.5、9.0 的保存液中检测到活菌, 但其实验未进行定量测定。程本亮(2010)的研究表明无致病力突变株的最适 pH 均是 6~7 之间, 在 pH 为 5 的条件下所有菌株都不能生长, 在 pH 为 9 的条件下仅有少量原始菌株 Rs91 生长; 无致病力突变株的最适生长温度与 Rs91 无差异, 为 30 $^{\circ}$ C; 45 $^{\circ}$ C 时, 除

三株突变株能生长外,其他菌株均不能生长或仅有极少量的生长。本实验发现在 40 °C 处理强致病菌株 1 h 后,活菌数显著低于其他处理,表明在 40 °C 时已有部分菌株死亡,在 50 °C 处理中未发现活菌存在。另外 20 °C 处理下,不确定菌株比例显著低于其他处理,强致病力菌株比例最高,表明 20 °C 可能为青枯雷尔氏菌强致病力菌株最适存活温度。40 °C 处理下不确定菌株比例显著高于其他温度处理,表明此温度下,强致病力菌株存在较大程度的变异。

刘波等(2004)研究发现,野生型青枯雷尔氏菌存在强致病力菌株和无致病力菌株的混杂,生防菌的致弱过程伴随着强致病力菌株和无致病力菌株比例的变化,当强致病力菌株占优势时,菌株表现出致病性,当无致病力菌株占优势时,菌株不表现出致病性。表明在青枯雷尔氏菌强致病菌株的侵染过程中,抢占侵染位点是导致青枯病的一个原因。

野生型强致病力青枯雷尔氏菌基因组中的 *phc* 基因(表型转换系统基因)发生突变后,形成无致病力菌株,菌落形态也随之改变(程本亮,2010;Kelman,1954)。通过 Co⁶⁰ 辐射、紫外光诱变、转座子 Tn5 诱变及自发突变体等途径获得无致病力青枯菌,并用于防治青枯病取得效果(Trigalet *et al.*, 1990;康耀卫等,1995;董春等,1999)。青枯雷尔氏菌具有寄主专化性,杨玉秀等(2013)的研究结果表明,菌株 HX15 及 HX17 对广藿香的致病性明显高于番茄和花生,菌株 HX6 对 3 种寄主均有较强的致病性。番茄青枯菌 GIM1.70 对广藿香仅有弱致病性。Yeonhwa *et al.*(2011)在导致辣椒发病的菌株 SL341 中和导致马铃薯发病的菌株 SL2029 中分离出一个共同的基因 *rsa1*,它控制 SL2029 对辣椒不致病,同时控制 SL341 对辣椒致病。

本研究通过继代培养、在 NB 培养基上不同时间培养、不同 pH 处理、不同温度处理,找出青枯雷尔氏菌强致病力菌株变异的情况,对研究人工处理青枯雷尔氏菌强致病力菌株转化为无致病力菌株进而用无致病力菌株防治青枯病有一定意义。青枯雷尔氏菌强致病力菌株在培养过程中也容易发生自然突变,在分离无致病力菌株过程中要加以区别,但目前还未找到很好的区分方法。关于青枯雷尔氏菌强致病菌株变异以及致弱机理还有待进一步研究。

参考文献:

Cheng BL(程本亮). 2010. The study on differentiation of patho-

- genicity of *Ralstonia solanacearum* (青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)致病力分化的研究[D]. Fuzhou(福州): Fujian Agriculture and Forestry University(福建农林大学)
- Dong C(董春), Zeng XM(曾宪铭), Liu QG(刘琼光). 1999. Biological control of tomato bacterial wilt with avirulent bacteriocinogenic strain of *Ralstonia solanacearum* (利用无致病力青枯菌防治番茄青枯菌的研究)[J]. *J S Chin Agric Univ*(华南农业大学学报), **20**(4): 1-4
- Ge YY(葛芸英), Guo JH(郭坚华), Qi HY(祁红英), *et al.*. 2001. Strain detection of aseptic water with room temperature preservation in *Ralstonia solanacearum* (无菌水常温保存番茄青枯菌的效果检测)[J]. *Plant Prot*(植物保护), **27**(6): 29-30
- Kang YW(康耀卫), Mao GZ(毛国璋), Lv CS(吕常盛), *et al.*. 1995. Biological control of bacterial wilt of tomato by using extracellular protein defective mutant of *Pseudomonas solanacearum* (利用青枯菌胞外蛋白输出缺失突变体防治番茄青枯病的研究)[J]. *Acta Phytophyl Sin*(植物保护学报), **22**(3): 287-288
- Kelman A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium[J]. *Phytopathology*, **44**: 693-695
- Liu B(刘波), Zhu YJ(朱育菁), Lin KM(林抗美), *et al.*. 2007. Study on numerical and pathogenic variations of *Ralstonia solanacearum* distributed within the tissue of host plants(青枯雷尔氏菌在植株体内分布及其致病力的异质性研究)[J]. *Sci Agric Sin*(中国农业科学), **40**(7): 1559-1566
- Liu B(刘波), Lin YZ(林营志), Zhu YJ(朱育菁), *et al.*. 2004. Attenuation characteristics of bacterial-wilt-disease biocontrol strain anti-8098A (*Bacillus cereus*) to *Ralstonia solanacearum* (生防菌对青枯雷尔氏菌的致弱特性)[J]. *J Agric Biotechnol* (农业生物技术学报), **12**(3): 322-329
- Miao K(缪凯). Research on the relationship between the resistance to tomato bacterial wilt and enzyme activities(番茄对青枯病抗性与酶活性关系的研究)[D]. Ya'an(雅安): Sichuan Agricultural University(四川农业大学)
- Trigalet A, Trigalet-Demery D. 1990. Use of avirulent mutants of *Pseudomonas solanacearum* for the biological control of bacterial wilt of tomato plants[J]. *Physiol Mol Plant Pathol*, **36**: 27-38
- Xiao Y(肖焯), Hong YY(洪艳云), Yi TY(易图永), *et al.*. 2007. Advances in biological control of tomato bacterial wilt (番茄青枯病生物防治研究进展)[J]. *Plant Prot*(植物保护), **33**(2): 15-20
- Yang YX(杨玉秀), He H(贺红), Xu R(徐燃), *et al.*. 2013. PCR identification and host specificity testing of *Ralstonia solanacearum* from *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth(广藿香青枯菌的 PCR 鉴定与寄主专化性研究)[J]. *J Guangzhou Univ Trad Chin Med* (广州中医药大学学报), **30**(4): 566-570
- Yeonhwa J, Hoon C, Okhee C, *et al.*. 2011. An HrpB-dependent but type III-independent extracellular aspartic protease is a virulence factor of *Ralstonia solanacearum* [J]. *Mol Plant Pathol*, **12**(4): 373-380
- Zhang CL(张长龄), Hua JY(华静月), Wang D(王东), *et al.*. 1993. Preservation of *Ralstonia solanacearum* (青枯菌的菌种保存)[J]. *Plant Prot*(植物保护), (1): 39-40