

辣椒细菌性果实条斑病病原鉴定

张卢慧, 赵志强, 郭庆元

(新疆农业大学农学院, 乌鲁木齐 830052)

摘要:【目的】研究鉴定 2018 年在新疆巴音郭楞蒙古自治州和硕县辣椒种植区内新发现一种辣椒细菌性果实条斑病病原, 为该病田间病害规律研究和病害防治提供依据。【方法】采用组织分离法、柯赫氏法则回接证病、形态学观察、生理生化特性测定、16S rDNA 分子鉴定等方法, 鉴定该病病原菌, 运用针刺接种法对辣椒果面进行致病性回接测定。【结果】从田间采集的发病辣椒果面上分离、纯化共获得 30 个单菌落; 获得了 4 个致病性强的菌株, 4 个菌株形态特征及生理生化测定结果一致。4 个致病菌株均与已报道的阿根廷假单胞菌 *Pseudomonas argentinensis* 聚在一个进化发育分支中, 并且与模式菌株 *P. argentinensis* CH01T (登录号: AY691188) 的相似性达到 99.2%。【结论】新疆和硕县辣椒细菌性果实条斑病的病原菌鉴定为 *P. argentinensis*。

关键词:辣椒; 细菌性条斑病; 阿根廷假单胞菌; 分子鉴定

中图分类号: S436.418

文献标识码: A

文章编号: 1001-4330(2022)07-1726-08

0 引言

【研究意义】辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 种植面积最大的蔬菜作物之一^[1]。新疆辣椒产业近年来发展速度非常快^[2], 2019 年新疆产区年种植辣椒总面积达到 3.67×10^4 hm²。近几年辣椒病害逐年增加, 制约着辣椒的品质及产量。发生于新疆巴州和硕县辣椒种植区的辣椒细菌性条斑病是当地辣椒生产中发生普遍, 危害较大的病害。【前人研究进展】国内外已报道的辣椒细菌性病害主要有细菌性疮痂病、细菌性叶斑病、软腐病、青枯病等, 陈新等^[3]报道引起辣椒细菌性疮痂病的病原菌为野油菜黄单胞杆菌辣椒斑点病致病变种 (*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* (Doidge) Dye), 该病害主要危害辣椒的叶片、茎、果实, 侵染症状为圆形或不规则性、暗褐色、边缘隆起中央凹陷的病斑, 粗糙呈疮痂状, 与辣椒细菌性斑点病极为相似。邓刚^[4]报道引起甘肃张掖地区番茄细菌性叶斑病的病原菌为丁香假单胞菌番茄致病

变种 (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (Okabe) Young, Dye & Wikie), 该病害主要危害叶片, 危害症状为叶片产生深褐色至黑色不规则斑点, 果实呈黑色隆起的小斑点, 果实中央形成木栓化疮痂, 且该病原菌也可侵染辣椒。肖济全^[5]报道引起四川省广元市辣椒软腐病的病原菌为 *Erwinia carotovora* subsp. *Carotovora*, 该病害主要危害果实, 病果初期出现水渍状暗绿色斑, 后期果实内部腐烂, 果皮变白。周安韦^[6]报道引起贵州地区的辣椒青枯病的病原菌为青枯劳尔氏菌 (*Ralstonia solanacearum*), 该病害危害症状为初期全株叶片萎蔫, 后期整株植株萎蔫枯死。【本研究切入点】针对辣椒细菌性病害的病原鉴定、致病机理与防治等进行了研究, 而关于主要在果实上引起条斑的辣椒细菌性果实条斑病, 尚未见到相关报道。2018 年在新疆巴州和硕县辣椒种植区内发现一种主要引起辣椒细菌性果实条斑的病害。该病害主要侵染辣椒果实、叶柄及嫩茎, 以果实病斑最为显著, 叶片无明显症状, 发病的辣椒果实表面布有

收稿日期 (Received): 2021-09-18

基金项目: 新疆维吾尔自治区研究生创新项目 (XJAUGRI2018-004)

作者简介: 张卢慧 (1995-), 女, 新疆博乐人, 硕士研究生, 研究方向为作物病害及防治, (E-mail) 1421023812@qq.com

通信作者: 郭庆元 (1962-), 男, 四川人, 教授, 博士生导师, 研究方向为作物病害及防治, (E-mail) guoqingyuan3009@sina.com

褐色的条形病斑。该病害的发病症状与国内外已报道的辣椒细菌性病害及辣椒条斑病毒病不同,是一种国内新发现病害,需进行病原鉴定。【拟解决的关键问题】采集田间病样,采用组织分离纯化、柯赫氏法则回接证病、形态学观察和分子生物学鉴定的方法,研究发生于新疆巴州和硕县辣椒种植区的辣椒细菌性条斑病的病原,为田间病害规律为病害防治提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

2018 年在新疆巴州和硕县辣椒种植区内红龙 23 号品种上发现一种新的辣椒病害。在新疆巴州和硕县辣椒种植区采集的多份辣椒果实病样为供试样品。

供试培养基:NA 固体培养基:牛肉膏 5 g、蛋白胨 10 g、氯化钠 5 g、琼脂 17 g、蒸馏水 1 L,pH 调至 7.2。

1.2 方法

1.2.1 喷菌现象观察

田间采集辣椒病样用自来水冲洗表面,晾干后切取病健交界处一小块组织,在载玻片上滴加一滴蒸馏水,切取的组织置于载玻片上,盖上盖玻片,迅速将制好的玻片放在显微镜下观察,以确认组织切口处是否有大量的细菌溢出。

1.2.2 病原菌的分离纯化

田间采集回的辣椒病样表面用自来水冲洗 1 min,用 75% 的酒精棉球擦拭表面并晾干后,在超净工作台内切取病健交界处一小块组织(5 mm × 5 mm),采用平板划线法^[7]分离组织,75% 酒精浸泡表面消毒 30 s,1% 次氯酸钠浸泡表面消毒 1 min,无菌水清洗 3 次,每次冲洗 30 ~ 40 s,用灭过菌的滤纸吸干组织表面水分,在培养皿加入 1 mL 的无菌水,将病组织放入培养皿中并将病组织剪碎成小块,静置 15 ~ 20 min,用接种环蘸取一环浸泡液进行平板划线,28℃ 培养 2 d 后,挑取培养基表面长出的单菌落反复纯化 2 ~ 3 次,纯化 2 ~ 3 次后转接到 NA 斜面试管上,4℃ 保存备用。

1.2.3 病原菌致病性

1.2.3.1 菌悬液制备

采用平板划线法,将从田间病样上分离、纯化获得的细菌菌株转接于 NA 固体培养基平板上,

28℃ 活化培养 48 h 后,挑取培养基表面长出的单菌落转接到 NA 培养液中,28℃、160 r/min 振荡培养 12 h,用无菌水将培养液稀释成浓度约为 10^8 CFU/mL 的菌悬液,供辣椒致病性回接和烟草过敏性反应测定用。

1.2.3.2 辣椒致病性回接

从田间采集的辣椒果实病样中分离、纯化共得到 30 个单菌落菌株。对 30 个分离菌株采用针刺接种法进行的致病性回接。将回接用的离体辣椒果实表面用自来水冲洗干净,再用 75% 的酒精棉球擦拭辣椒表面,待辣椒表面晾干后,用一次性的 2.5 mL 无菌注射器吸取制备好的菌悬液,用针头在健康辣椒果实表面针刺 8 ~ 9 个孔,在针刺的同时将菌悬液注入到针刺孔中,以针刺注射无菌水作为对照,将针刺接种后的辣椒果实及其对照置于有保湿滤纸的发芽盒中,28℃,恒温、保湿培养,观察辣椒果实表面发病情况。待辣椒果面发病后取发病组织再次组织分离,确认接种后致使辣椒果面发病的菌株是否与所接种的菌株一致。

1.2.3.3 烟草过敏性反应

选用室内种植的长有 5 ~ 6 片真叶的烟草叶片,用 2.5 mL 一次性无菌注射器吸取菌悬液,从离体烟草叶片背面针刺接种,以注入无菌水叶片作为对照,接种后的烟草叶片及其对照置于有保湿滤纸的发芽盒中,28℃,恒温、保湿培养,观察烟草叶片接种区域是否有过敏性枯斑出现,24 ~ 48 h 内产生过敏性枯死斑的为阳性反应,72 h 后才产生枯死斑的为阴性反应。

1.2.4 病原菌鉴定

1.2.4.1 形态学观察及生理生化反应测定

在 NA 平板培养基上观察供试菌株菌落特征,通过染色和镜检观察菌体形态,参照《植物病原细菌鉴定试验指导》^[8]和《伯杰氏细菌鉴定手册第八版》^[9]测定菌株生理生化指标。

1.2.4.2 病原菌分子鉴定

1.2.4.2.1 基因组 DNA 提取

采用文献已报道的煮沸法^[10]提取菌株的基因组 DNA。用无菌枪头挑取平板培养的单菌落,将单菌落转到加有 100 μ L ddH₂O 的 1.5 mL 离心管中,沸水煮沸 10 min,室温冷却 5 min 后,12 000 r/min 离心 5 min,离心后得到的上清液即为菌株基因组 DNA 样品,将其置于 -20℃ 保存备用。

1.2.4.2.2 16SrDNA 基因扩增

采用 16SrDNA 通用引物 27F/1492R^[11] 对提取出的 4 个供试菌株的 DNA 样品进行 16SrDNA 扩增,上游 27F 序列(5'-3'端):AGAGTTTGATC-MTGGCTCAG;下游 1492R 序列(5'-3'端):GGYTACCTTGTTACGACTT;反应体系(25 μ L):2 x San Taq PCR Mix 12.5 μ L、DNA 模板 2 μ L、上游引物(10 μ mol/L)1 μ L、下游引物(10 μ mol/L)1 μ L、ddH₂O 8.5 μ L;反应程序:94℃ 预变性 5 min;94℃ 变性 30 s,55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,共 35 个循环;最后 72℃ 延伸 10 min,扩增片段长度为 1 500 bp 左右。取 5 μ L PCR 扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测后,送至上海生工生物工程进行测序。获得序列后,登录 NCBI 网站,将测序获得的菌株序列进行 Blast 同源性比对,比对后选取同源性高的序列,并从 LPSN 网站下载模式菌株,采用 MEGA 7.0 软件以邻接法构建系统发育树,以确定病原菌的种。

2 结果与分析

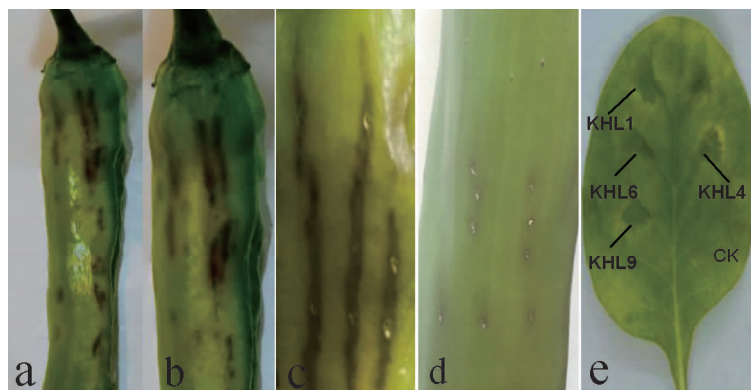
2.1 辣椒细菌性条斑病症状及发病特点

研究表明,该病害症状主要表现在辣椒果实、叶柄和嫩茎上,叶片无明显症状。该病害在 6~7 月为高发期,发病初期茎部形成水渍状斑点,后逐渐扩展成褐色条斑。以果实病斑最为显著,且在果实中上部病斑较多,果实尖端病斑较少。病果

实表面布有几个至几十个长短不一的黄褐色条形斑,以及尚处于侵染初期的褐色水浸状斑点,病斑周围无明显的黄色晕圈。该病在田间有明显的由初侵染斑点扩展为条斑,由短条斑扩展为长条斑的病斑扩展过程,有明显的由轻病情很快扩展为重病情的侵染扩散现象,有荫蔽高湿处发病较重的发病特点,有明显的抗性差异,相似环境下有几乎不发病的对该病表现为高抗的辣椒品种。病害样品经室内显微镜观察有明显的喷菌现象,确定其为细菌性果实条斑病。图 1

2.2 病原菌分离及致病菌株筛选

研究表明,有 4 个菌株(KHL1、KHL4、KHL6、KHL9)表现出明显的致病性,接种 2 d 后果面产生水渍状小条斑;接种 3 d 后病斑颜色变深扩展成暗褐色长条形斑,病斑周围无明显的黄色晕圈;接种 7 d 后病斑连成片,果实面腐烂;室内针刺接种后的辣椒果面发病症状与田间辣椒果面发病症状相同,而用无菌水针刺的健康辣椒果面无发病症状。从接种发病病样上再次分离得到的细菌形态特征与所接种的细菌形态特征一致;再分离菌株 16SrDNA 基因测序结果与所接种菌株 16SrDNA 基因测序结果一致,且 4 个菌株烟草过敏反应测定均为阳性。4 个菌株(KHL1、KHL4、KHL6、KHL9)为辣椒细菌性条斑病的致病菌。图 1



注:a、b:田间自然侵染条件下辣椒表面发病症状;c:回接症状;d:CK;e:菌株烟草过敏性反应

Note: a, b: Symptoms of surface disease on pepper under natural infestation in the field; c: Symptoms of tieback; d: control; e: Strain tobacco allergic reaction

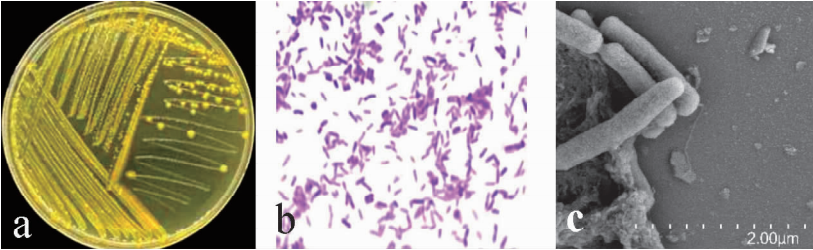
图 1 辣椒细菌性果实条斑病田间发病症状、回接症状及烟草过敏性反应结果

Fig. 1 Symptoms of Bacterial Leaf Spot of Pepper in the Field and Back to symptoms and tobacco allergic reaction results

2.3 形态学特征及生理生化性状

研究表明,4 个致病菌株在 NA 培养基上的菌落形态无差异,圆形、黄色、表面光滑有光泽、边缘整齐,隆起且生长较快。4 个致病菌株菌体为直或稍弯的短杆状, G^- ,大小为 $0.34 \sim 0.50 \mu m \times 1.35 \sim 2.12 \mu m$,有 1 根极生鞭毛,无荚膜,无

芽孢。以 4 个菌株接触酶反应、氧化酶反应、过氧化氢酶反应、硝酸盐还原反应呈阳性,吡啶试验呈阴性,不水解明胶。可利用 D - 果糖、葡萄糖、甘露醇、海藻糖、半乳糖、L - 阿拉伯糖、乳糖、蔗糖产酸,不可利用麦芽糖、纤维二糖、菊糖、肌醇、木糖醇、山梨醇产酸。表 1



注:a:菌落在 NA 培养基上的形态;b:菌体形态;c:菌体大小
Note: a: The morphology of the colony on NA medium; b: Gram stain results; C: Size of bacteria

图 2 病原菌代表菌株 KHL1 的形态特征

Fig.2 Morphological characteristics of the representative isolate KHL1 strain

表 1 供试 4 个菌株生理生化特性测定结果

Table1 Physiological and biochemical characteristics of 4 strains tested

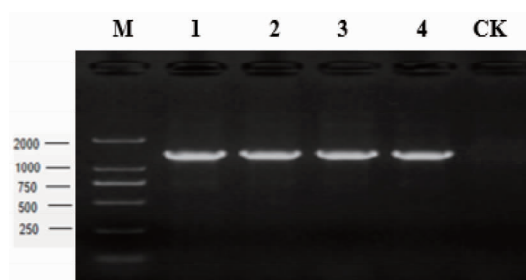
项目 Items	菌株 Strains			项目 Items	菌株 Strains		
	1 - 4	5	6		1 - 4	5	6
革兰氏染色 Gram stain	-	-	-	海藻糖 Trehalose	+	+	+
氧化酶 Oxidase	+	+	+	半乳糖 Galactose	+	+	-
接触酶 Hydrogen peroxidase	+	+	+	麦芽糖 Maltose	+	+	-
硝酸盐还原 Nitratreduction	+	+	-	阿拉伯糖 Arabinose	+	+	+
甲基红测定 Methylred test	-	ND	-	纤维二糖 Cellobiose	-	-	-
V - P 测定 VogesProskauer	-	ND	-	菊糖 Inulin	-	-	-
吡啶 Indole	-	-	-	肌醇 Inositol	-	-	+
明胶液化 Gelatinliquefaction	-	-	-	木糖 xylose	-	-	-
过氧化氢酶 Catalase	+	+	+	蔗糖 Sucrose	+	-	+
4 度生长 Under 4℃ growth	-	-	-	山梨醇 Inositol	-	-	-
D - 果糖 D - fructose	+	+	+	赤藓糖醇 Meso - erythritol	-	-	-
葡萄糖 Glucose	+	+	+	甘露醇 Mannitol	+	+	-

注:1 - 4 表示 KHL1、KHL4、KHL6、KHL9 菌株;5 表示阿根廷假单胞菌菌株 CH01;6 表示恶臭假单胞菌 ATCC47054 菌株;“+”表示阳性;“-”表示阴性;ND 表示未收集到数据
Note: 1 - 4: KHL1, KHL4, KHL6, KHL9 strains; 5: *P. argentinensis* CH01; 6: *Pseudomonas putida* ATCC47054; “+”: positive; “-”: negative. ;ND: no data available

2.4 病原菌分子鉴定

研究表明,扩增产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测均获得 1 500 bp 左右的目标条带,将扩增产物送至上海生工测序,其扩增片段大小分别为 1 468、1 434、1 440 和 1 438 bp。将测序得到的 4 个菌株的核苷酸序列提交到 GenBank 中,分别获得登录号 MW084715、MW084716、MW084717、

MW084718。4 个分离菌株均与 *P. argentinensis* (登录号: AY691189. 2)、*P. argentinensis* (登录号: NR043115. 1)、*P. argentinensis* CH01T (登录号: AY691188) 聚在一个进化发育分支中,与模式菌株 *P. argentinensis* CH01T (AY691188) 的相似性达到了 99. 2 %。菌株 KHL - 1、KHL - 4、KHL - 6、KHL - 9 鉴定为 *P. argentinensis*。图 3,图 4



注: M; 2000 D Ladder marker; 1-4: 菌株 KHL1、KHL4、KHL6、KHL9 16SrDNA 扩增结果; CK: 阴性对照

Note: M: 2000 D Ladder marker; 1-4: 16SrDNA amplification results of strains KHL1、KHL4、KHL6、KHL9; CK: negative control

图3 菌株 KHL1、KHL4、KHL6、KHL9 16SrDNA 扩增

Fig.3 The results of 16SrDNA amplification of strains KHL1、KHL4、KHL6、KHL9

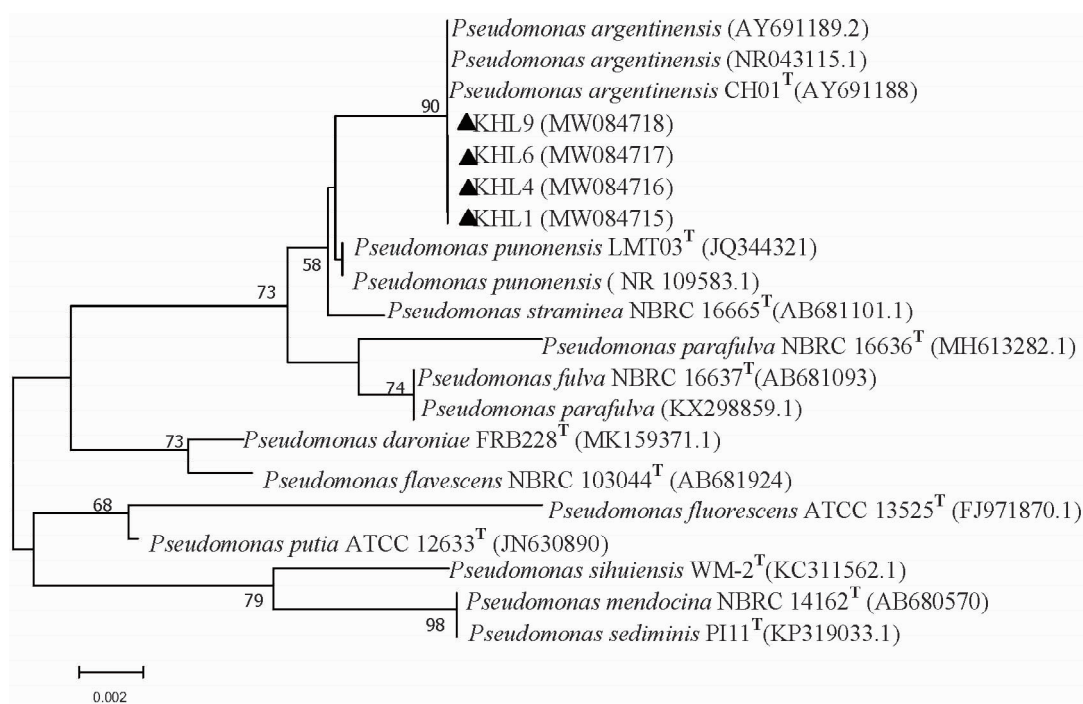


图4 供试菌株 KHL1、KHL4、KHL6、KHL9 基于 16SrDNA 基因序列的系统发育树

Fig.4 The phylogenetic tree of the tested strains KHL1, KHL4, KHL6, KHL9 based on the 16S rDNA gene sequence

3 讨论

盛强^[12]、邓刚^[13]、管晶晶^[14]、Gappa-Adachi 等^[15]对不同地区发生的辣椒细菌性叶斑病的病原进行了鉴定,分别报道为黄褐假单胞菌(*Pseudomonas fulva*)、丁香假单胞菌甜菜致病变种(*Pseudomonas syringae* pv. *Aptata*)、丁香假单胞菌丁香致病变种(*Pseudomonas syringae*)、菊苣假单胞菌(*Pseudomonas schicory*)等病原细菌。在澳大利亚、美国、印度等国家,以及中国东北、内蒙古、山西、北京等地均有野油菜黄单胞杆菌辣椒斑

点病致病变种(*Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*)引起的辣椒细菌性疮痂病的报道^[16-18]。辣椒细菌性病害可由多种细菌性病原菌引起。孙福在等^[19]报道细菌性叶斑病在辣椒茎秆及果实上的侵染症状主要表现为凸起的黑色斑点。Scott J W 等^[20]报道细菌性疮痂病在辣椒果实上侵染症状为圆形或近圆形的黑色疮痂斑,研究中新发现的细菌性条斑病在果实及茎秆上的侵染症状主要为褐色条形斑,病斑不凸起,与前人报道的辣椒细菌性病害有所不同,而国内文献尚未有对该病害的报道。

Alvaro Peix 等^[21]于 2005 年从阿根廷科尔多瓦的土壤样本中分离出一种新的假单胞菌属物种,通过形态特征、生理生化测定结合分子鉴定方法将该物种鉴定为阿根廷假单胞菌(*P. argentinensis*)。该菌具有多样性和广泛性,可以从植物、土壤、动物、人体分离出来^[22-24]。Pal-lavi Mansotra^[25]、Manisha Phour 等^[26]研究报道该菌有增强植物的抗病性,促进作物在盐胁迫下生长的功能,被作为 PGPR 菌株研究应用。Hariharan H 等^[27]报道该菌可以从动物的口腔中分离出来,能够感染动物引发脑膜炎、腹膜炎等。Sameer A 等^[28]于 2014 年首次报道该菌从人体感染的皮肤中分离出来,造成人体皮肤感染。阿根廷假单胞菌作为一种致病菌,能够侵染动物、人体,但引起植物侵染的病害少有报道,研究中引起辣椒侵染的阿根廷假单胞菌是否与引起人体、动物侵染的致病菌具有一样的特性,还有待于进一步的研究。

致病菌株除了利用乳糖、蔗糖产酸结果不同外,其它生理生化特性结果均与阿根廷假单胞菌一致,可能与在不同环境中分离有关。在田间调查发现,发病的辣椒种植区栽植密度过大,尤其在一膜四行的中间行下部较为荫蔽,不利于通过风、透气、降温,不利于作物的光合作用的地方,易造成病菌的侵入和感染;并且该种植区连续十几年种植辣椒,长期单一连作会导致土壤中的有害菌的种类和数量增加,对植物易造成侵染。这些因素可能是造成该病害发生的因素,关于该病害的发病规律、寄主范围等是今后研究工作的重点。

4 结 论

根据病害症状特点及田间发病特点和喷菌现象确定发生在新疆巴音郭楞蒙古自治州和硕县辣椒种植区的辣椒病害为细菌性病害,是发生在辣椒上的一种新病害,拟以“辣椒细菌性果实条斑病”为病害名称。经组织分离、纯化、致病性测定形态学鉴定和分子生物学鉴定,确定该病原菌为阿根廷假单胞菌(*P. argentinensis*)。

参考文献 (References)

- [1] 赫卫,张慧. 辣椒疫病抗性的浸根接种鉴定方法[J]. 植物保护, 2020, 46(6): 159-163, 169.
HE Wei, ZHANG Hui. Identification method of pepper blight re-

- sistance by soaking root inoculation [J]. *Plant Protection*, 2020, 46(6): 159-163, 169.
- [2] 马振,黄勇,胡斌,等. 辣椒籽皮分离装置的设计研究[J]. 农机化研究, 2017, 39(11): 89-92.
MA Zhen, HUANG Yong, HU Bin, et al. Design and research of pepper seed peel separation device [J]. *Journal of Agricultural Mechanization Research*, 2017, 39(11): 89-92.
- [3] 陈新,刘清波,赵廷昌. 辣椒细菌性疮痂病原菌分类、检测及综合防治研究进展[J]. 植物保护, 2011, 37(1): 11-18.
CHEN Xin, LIU Qingbo, ZHAO Tingchang. Classification, detection and integrated control of pathogens of pepper bacterial scab disease [J]. *Plant Protection*, 2011, 37(1): 11-18.
- [4] 邓刚. 甘肃省番茄细菌性叶斑病研究[D]. 甘肃农业大学, 2008.
DENG Gang. *Research on Tomato Bacterial Leaf Spot in Gansu Province* [D]. Gansu Agricultural University, 2008.
- [5] 肖齐全. 辣椒软腐病的发生和防治[J]. 植物医生, 1997, 10(3): 7.
XIAO Jiquan. Occurrence and control of soft rot in pepper [J]. *Phytologist*, 1997, 10(3): 7.
- [6] 周安韦,廖卫琴,刘华兵,田浩. 黔北地区辣椒青枯病的发生与防治对策[J]. 辣椒杂志, 2016, 14(4): 15-17.
Zhou Anwei, Liao Weiqin, Liu Huabing, Tian Hao. Occurrence and control measures of pepper bacterial wilt in northern Guizhou [J]. *Chili Journal*, 2016, 14(4): 15-17.
- [7] 方中达. 植病研究法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
FANG Zhongda. *Plant Disease Research Method* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1998.
- [8] Schaad N W, Jones J B, Chun W. *Labortatory guide for identification of plant pathogenic bacteria (3rd Ed)* [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2011, (6): 55-59.
- [9] Buchanan R E, Gibberns N E. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (8th version)* [M]. Beijing: Science Press, 1984: 450-451.
- [10] G SSOW D, CLACKSON T. Direct clone characterization from plaques and colonies by the polymerase chain reaction [J]. *Nucleic Acids Res*, 1989, 17(10): 4000.
- [11] Buharin A, Lane D J, Shah J, et al. *Universal eubacteria nucleic acid probes and methods*. :Wo, EP0431149 A1 [P]. 1991.
- [12] 盛强, 罗明, 管晶晶, 等. 新疆加工型辣椒一种新的细菌性叶斑病病原的鉴定[J]. 植物保护学报, 2017, 44(2): 260-268.
SHENG Qiang, LUO Ming, GUAN Jingjing, et al. Identification of a new bacterial leaf spot pathogen of processed pepper in Xinjiang [J]. *Acta Phytophylacica Sinica*, 2017, 44(2): 260-268.
- [13] 邓刚, 屈星, 陈秀蓉, 等. 甘肃番茄细菌性斑点病病原菌鉴定[J]. 植物保护, 2008, 34(5): 47-51.

- DENG Gang, QU Xing, CHEN Xiurong, et al. Pathogenic identification of bacterial leaf speck of tomato based on 16S rDNA, physiology and biochemistry in Gansu Province[J]. *Plant Protection*, 2008, 34(5): 47–51.
- [14] 管晶晶, 李克梅, 罗明, 等. 新疆加工型辣椒细菌性斑点病的发生和病原鉴定[J]. *植物病理学报*, 2015, 45(3): 239–247.
- GUAN Jingjing, LI Kemei, LUO Ming, et al. The occurrence and pathogen identification of bacterial leaf spot of processing pepper in Xinjiang[J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2015, 45(3): 239–247.
- [15] Gappa – Adachi R, Morita Y, Shimomoto Y, et al. Bacterial leaf blight of sweet pepper (*Capsicum annuum*) caused by *Pseudomonas cichorii* in Japan [J]. *Journal of General Plant Pathology*, 2014, 80(1): 103–107.
- [16] Cox R S. The role of bacterial spot in tomato production in south Florida [J]. *Plant Dis Repr*, 1966, 50(4): 699–700.
- [17] 孙福在, 朱红, 郑建秋, 等. 京郊和大同地区发生番茄细菌性疮痂病[J]. *植物保护*, 1991, 17(4): 50.
- SUN Fuzai, ZHU Hong, ZHENG Jianqiu, et al. Tomato bacterial scab occurred in Jingxiao and Datong areas [J]. *Plant Protection*, 1991, 17(4): 50.
- [18] 杜志强, 孙福在. 辣椒、番茄细菌性疮痂病国内外研究进展[J]. *植物检疫*, 1994, 8(6): 358–360.
- DU Zhiqiang, SUN Fuzai. Research progress on bacterial scab of pepper and tomato at home and abroad [J]. *Plant Quarantine*, 1994, 8(6): 358–360.
- [19] 孙福在, 杜志强, 焦志亮, 等. 辣椒、番茄细菌性叶斑病病原菌及生理小种鉴定[J]. *植物病理学报*, 1999, 29(3): 265–269.
- SUN Fuzai, DU Zhiqiang, JIAO Zhiliang, et al. Identification of pathogens and physiological races of bacterial leaf spot of pepper and tomato [J]. *Acta Phytopathology*, 1999, 29(3): 265–269.
- [20] Scott J W. *Tomato improvement for bacterial disease resistance for the tropics: A contemporary basis and future prospects* [M]. Proceedings of the First International Conference on the Processing Tomato and the First International Symposium on Tropical Tomato Diseases. ASHS Press Virginia, 1997, 63(1): 17–123.
- [21] Peix, A. *Pseudomonas argentinensis* sp. nov. a novel yellow pigment – producing bacterial species, isolated from rhizospheric soil in Cordoba, Argentina [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2005, 55(3): 1107–1112.
- [22] Sharma P, Khanna V, Kaur N, et al. Effect of dual inoculation of *Pseudomonas argentinensis* LPGPR1 and *Mesorhizobium* on growth of chickpea (*Cicer arietinum* L.) [J]. *Journal of Research*, 2013, 50(1&2): 1–4.
- [23] Adewale, A. M., Kheng, et al. Antimicrobial and enzymatic activities of endophytic bacteria isolated from *Mentha spicata* (MINT) [J]. *Malaysian Journal of Microbiology*, 2015: 11.
- [24] Lafi F F, Alam I, Geurts R, et al. Draft Genome Sequence of the Phosphate – Solubilizing Bacterium *Pseudomonas argentinensis* Strain SA190 Isolated from the Desert Plant *Indigofera argentea* [J]. *Genome Announcements*, 2016, 4(6): e01431–16. doi:10.1128/genomeA.01431–16.
- [25] Mansotra P, Sharma P, Sharma S. Bioaugmentation of *Mesorhizobium cicer*, *Pseudomonas* spp. and *Piriformospora indica* for Sustainable Chickpea Production [J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2015, 21(3): 1–9.
- [26] Adewale A M, Kheng G J, Ping L S, et al. Antimicrobial and enzymatic activities of endophytic bacteria isolated from *Mentha spicata* (MINT) [J]. *Malaysian Journal of Microbiology*, 2015, (11): 102–108.
- [27] Hariharan H, Matthew V, Fountain J, et al. Aerobic bacteria from mucous membranes, ear canals, and skin wounds of feral cats in Grenada, and the antimicrobial drug susceptibility of major isolates [J]. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 2011, 34(2): 129–134.
- [28] Sameer A. Barghouthi, Khalid Younis. First time isolation of *Pseudomonas argentinensis* from human skin Infection [J]. *Journal of Microbiology and Infectious Diseases*, 2014, 4(2): 78–83.

Identification of Pathogen Causing Fruit Bacterial Streak on Pepper

ZHANG Luhui, ZHAO Zhiqiang, GUO Qingyuan

(College of Agronomy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: **[Objective]** In 2018, a new disease causing the fruit bacterial streak on pepper was discovered in the pepper planting area of Hexud County in Xinjiang. This project aims to clarify its pathogenic species, and provide basis for further research on the disease regularity in field and control the disease. **[Methods]** Tissue separation method, Koch's postulates, morphological observation, physiological and biochemical characteristics determination, 16SrDNA gene phylogenetic analysis were used to identify the pathogen of the disease. **[Results]** Thirty single colonies were isolated and purified from the surface of diseased fruits collected in the pepper field. Through the pathogenicity back inoculated by acupuncture inoculation method, four pathogenic strains were obtained. They were consistent with the morphological characteristics and physiological and biochemical test results. The phylogenetic tree results showed that the four pathogenic strains were grouped into one branch: *Pseudomonas argentinensis* that was reported, and the similarity with the model strain *P. argentinensis* CH01T (accession number: AY691188) reached 99.2 %. **[Conclusion]** The pathogen of pepper bacterial streak in Hexud County in Xinjiang was identified as *P. argentinensis*.

Key words: pepper; bacterial fruit streak; *P. argentinensis*; molecular identification

Fund project: Graduate Student Innovation Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region (XJAUGRI2018-004)

Correspondence author: GUO Yuan (1962-), male, Sichuan, Professor, main research directions for crop diseases and their prevention, (E-mail) guoqingyuan3009@sina.com