

玉米细菌干茎腐病菌成团泛菌的种子传播

曹慧英 李洪杰 朱振东 王晓鸣*

(中国农业科学院作物科学研究所, 农作物基因资源与基因改良国家重大科学工程, 北京 100081)

摘要: 为明确成团泛菌 *Pantoea agglomerans* 引起的玉米细菌干茎腐病经种子传播的规律, 采用细菌常规分离法、Sherlock 微生物鉴定系统、特异性分子检测技术, 对与干茎腐病相关的杂交种金玉 9856 及其父本 PS056 母本 OSL190 进行了种子带菌检测, 证明金玉 9856 和 PS056 种子内部带菌, 获得分离物 Pag1 和 Pag2 2 个分离物对感病的 PS056 均具有致病性。菌液浸种、种子注射接种和自然带菌种子直播都能够引发干茎腐病, 发病率分别达到 100%、100% 和 80%, 而持续高温 (50℃) 处理 4 天的种子则在植株上不表现症状。对种子接种后长成的植株的系统检测证明, 成团泛菌侵染种子后, 通过植株维管束系统向地上部组织扩展, 随着水分的运输, 病菌通过茎秆到达果穗的籽粒中, 完成从种子到植株、再到新种子的病害循环, 同时能够引起植株发病。

关键词: 玉米; 细菌干茎腐病; 成团泛菌; 种子带菌; 病害循环

Seed transmission of *Pantoea agglomerans*, causal agent of dry stalk rot in maize

Cao Huiying Li Hongjie Zhu Zhendong Wang Xiaoming*

(Institute of Crop Science / The National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement (NFCRI), Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract Bacterial dry stalk rot caused by *Pantoea agglomerans* is a new disease in maize seed production field. For understanding the transmission of *P. agglomerans* in maize seed, the detection of seeds of inbred line Jinyu 9856, male parent line PS056 and female parent OSL190 were conducted using three methods including normal method, Sherlock Microbial Identification System and molecular species-specific detection method. *P. agglomerans* was detected in and isolated from seeds of PS056 and Jinyu 9856, but not in OSL190. Two isolates were pathogenic and causing dry stalk rot in plants of PS056. *P. agglomerans* inoculated onto seeds of PS056 by soaking, injecting and nature infection, can cause typical symptoms of dry stalk rot and the infection percentage was 100%, 100% and 80%, using three inoculation methods respectively, and there were not symptoms by seed treatment with high temperature (50℃) for four days. The result of systematic detection showed that *P. agglomerans* inoculated on seeds can move up to maize plant and it can reach to leaves and seeds through stem along vascular system. All results mean that *P. agglomerans* successfully cycled from seed to new seed.

Key words maize; bacterial dry stalk rot; *Pantoea agglomerans*; seeds-borne; disease cycle

玉米细菌干茎腐病 (bacterial dry stalk rot) 是由成团泛菌 *Pantoea agglomerans* 引起的一种新的细菌

病害^[1]。2006 年以来, 该病在新疆、甘肃等玉米制种田中自交系 PS056 (父本) 上连续发生, 田间植株

基金项目: 农业部作物种质资源保护项目 (NB08-2130135-(25-30)-21), 国家科技支撑计划 (2006BAD08A 06)

作者简介: 曹慧英, 女, 1981 年生, 博士研究生, 研究方向为玉米细菌病害, email: cao_huiying@126.com

* 通讯作者 (Author for correspondence), email: wangxm@mail.caas.net.cn

收稿日期: 2010-09-06

发病率为 80% ~ 100%, 对杂交种种子生产有明显影响, 病害严重发生时甚至造成制种生产绝产。发病植株表现矮小, 茎下部的叶鞘表面出现褐色病斑, 剥开叶鞘后, 在茎皮上可见不规则的褐色病斑, 严重时发病部位茎皮及茎髓组织消失, 形成不规则的缺刻, 发病茎秆组织呈现干腐。

种子带菌是细菌病害传播和流行的主要途径。在泛菌属 *Pantoea* 中, 已证明玉米细菌枯萎病的病原菌斯氏泛菌 *Pantoea stewartii* 可以经种子传播^[2]。1933年, Ivanoff^[3]从玉米胚乳中分离获得了斯氏泛菌, 并提出斯氏泛菌属于种传侵染。Bock等^[4]检测了斯氏泛菌在病害循环中的作用, 并估测了该病菌侵染玉米种子后, 传播到幼苗上并导致植株发病的种传率。Michener等^[5]进一步精确计算了携带斯氏泛菌的玉米种子的种传率为 0.034% ~ 0.043%。Goszczyńska等^[6]研究认为, 引起洋葱心腐病的菠萝泛菌 *P. ananatis* 能够通过洋葱种子传播。迄今为止, 尚无关于成团泛菌通过种子传播而导致病害的报道。

干茎腐病对特定玉米杂交种的制种生产影响极大, 且该病害能够在不同地区同一自交系 PS056 上发生。2007年, 作者将甘肃制种基地提供的 PS056 种子在北京通州和昌平种植, 田间植株茎秆上出现相同的干茎腐症状。2008年, 作者将 2007年从北京昌平发病父本植株上收获的种子再次进行田间种植观察, 同时将 2006年在甘肃配制的杂交种金玉 9856 种子种植在甘肃和北京昌平, 父本表现出严重的干茎腐症状, 杂交种也出现轻微的症状。2009年, 在最初发病的甘肃病田中种植杂交种金玉 9856 (F_1) 自交后获得的 F_2 种子, 部分 F_2 植株上出现典型的干茎腐病症状。这些现象初步表明, 细菌干茎腐病能够通过种子传播。

本试验采用常规种子带菌检测和分子检测技术, 研究了玉米干茎腐病病菌的种子带菌特征以及病害从种子到幼苗, 再到种子的传播过程, 旨在初步阐明病害的传播途径, 为病害控制策略的制定和杂交种种生产提供帮助。

1 材料与方法

1.1 材料

供试玉米种子: 杂交种金玉 9856 父本 PS056 和母本 OSL190 由北京奥瑞金种业股份有限公司提供。致病性测定和种传研究接种用种子父本 PS056

和杂交种金玉 9856 均经过持续恒温灭菌处理 (50 °C 4天)^[7-8], 以确保种子中不带成团泛菌。

供试菌株: 成团泛菌 *P. agglomerans* XJ1 菌株由本实验室保存, 分离自 2006年发病玉米植株茎秆; 成团泛菌标准菌株购自中国普通微生物菌种保藏管理中心 (China General Microbiological Culture Collection Center CGMCC, 其编号为 1.2244^T = JCM 1236 = ATCC 27155 = NCTC 9381)。细菌分离物 Pag1 分离自玉米杂交种金玉 9856 种子内部, 分离物 Pag2 分离自父本 PS056 种子内部。

仪器: 气相色谱仪, Agilent 6890N, 美国安捷伦科技有限公司; 透射电子显微镜, H-7500 日本日立有限公司。

试剂: 牛肉汁蛋白胨培养基 (nutrient agar NA)、溶菌肉汤液体培养基 (luria-bertani LB) 和金氏 B 培养基 (King's B medium, KB) 参照 Schaad 等^[9]的方法配制; 胰蛋白胨大豆肉汤琼脂培养基 (trypticase soy broth agar, TSBA) 购自美国 Becton Dickinson 有限责任公司; 葡萄糖氧化发酵 Hugh-Lefson (HL) 培养基参照任欣正^[10]的方法配制。细菌基因组 DNA 提取试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司。

1.2 种子带菌检测

种子外部带菌检测采用随机水洗分离方法^[11]: 随机选取玉米父本 PS056 母本 OSL190 及杂交种金玉 9856 种子样品各 100 粒, 放入容量为 500mL 的三角瓶中, 加入无菌水 50mL, 剧烈震动 30 次, 将洗涤液分别倾倒入 1.5mL 离心管中, 3000 r/min 离心 10min 吸除上清液, 约留 0.2mL 含有沉淀物的液体, 将液体振荡混匀后, 用移菌环蘸取液体在 NA 平板上划线或均匀涂抹, 然后进行培养。

种子内部细菌检测参照 Khan 等^[12]的方法。随机从 1.2.1 所列材料中分别选取种子 100 粒, 75% 乙醇浸泡 5min 再用 3% 的次氯酸钠溶液浸泡 5min 用无菌水冲洗 3 遍, 然后在无菌容器中破碎种子, 加入适量 0.01 mol/L pH 7.2 磷酸盐缓冲液 (phosphate saline buffer, PBS) 在 4 °C 无菌条件下浸泡过夜。浸提液经过滤和离心浓缩后在 NA 平板培养基上划线或涂抹。

1.3 种子中细菌分离物的鉴定

革兰氏染色和生理生化的测定参照 Schaad 等^[9]的方法, 菌落形态特征测定参见中国科学院微生物研究所细菌分类组^[13]的《一般细菌常用鉴定方

法》鉴别成团泛菌的磷霉素抗性试验和 D-酒石酸盐的利用试验参照 Delétoile 等^[14]的方法。脂肪酸特征鉴定采用 Sherlock 微生物鉴定系统(美国微生物鉴定有限公司 Microbial Identification Inc., MID I)。脂肪酸提取参照 Janse^[15]和 Buyer^[16]的方法,鉴定数据在微生物鉴别系统(Microbial Identification System, MIS)中自动分析并进行种的判断^[17]。

细菌分离物的分子检测选用基于 *P. agglomerans* 16S rDNA 序列和特异于 *P. agglomerans* ITS 序列的引物对 Pa1/Pa2(序列未发表),预期扩增产物大小为 375 bp。分离自玉米发病茎秆中的菌株 *P. agglomerans* XJ1 的 DNA 和双蒸水分别作为阳性和阴性对照。

PCR 反应体系:模板 DNA 50~100 ng, 10 μmol/L 引物 Pa1 和 Pa2 各 1 μL, 10 mmol/L dNTPs, 1 × Taq buffer, 1U Taq DNA polymerase, 加无菌双蒸水使总体积为 50 μL。PCR 反应条件为:94℃预变性 5 min, 94℃变性 1 min, 60℃退火 40 s, 72℃延伸 1.5 min, 25 个循环;最后 72℃延伸 8 min, 4℃保温。PCR 反应产物在 1% 的琼脂糖凝胶中进行电泳并检测。

1.4 种子分离物的致病性测定

在田间种植经灭菌处理的 PS056 和金玉 9856 种子,待植株长至抽雄阶段进行接种。将从 PS056 种子内获得的分离物 Pag2 和金玉 9856 种子中获得的分离物 Pag1 分别注射接种,阳性对照为菌株 *P. agglomerans* XJ1, LB 培养液为阴性对照。注射方法参照任欣正^[10],接种悬浮液浓度为 1×10^7 CFU/mL,每株注射 1 mL,每处理接种 10 株,3 次重复。接种 1 周后观察发病情况。

1.5 种子传病试验

种子接种:以菌株 *P. agglomerans* XJ1 为试验用菌。(1)菌液浸种处理:将种子浸泡在细菌悬浮液中 4 h,取出种子并晾干,使细菌附着在玉米种子表面^[18]。(2)菌液注射种子处理:将细菌悬浮液注射到种子内部,确保种子带菌;(3)未灭菌、仅表面消毒的种子直播;(4)灭菌处理后的种子直播。处理(1)至(4)在田间条件下进行种植,每处理 100 粒种子;处理(1)同时在温室进行,处理后的种子播种在装有灭菌土的塑料花盆中,每盆播 5 粒,每处理种植 20 盆。接种处理的阳性对照为菌株 *P. agglomerans* 12244T, LB 培养液处理为阴性对照。细菌接种浓度为 1×10^7 CFU/mL,植株生长期系统观察发病情况。

1.6 病菌的侵染循环

PS056 种子经浸种接菌(*P. agglomerans* XJ1 菌株)后播种,单行播种 20 粒,留苗 10 株,3 次重复。在苗期和灌浆期分别取样进行细菌分离、鉴定和分子检测。苗期取样部位为叶片,灌浆期取样部位为穗位下方至近地表处的 6 个茎节、果穗籽粒。

2 结果与分析

2.1 种子带菌检测

2.1.1 种子外部带菌的分离

随机水洗父本 PS056 母本 OSL190 及杂交种金玉 9856 的种子后,洗涤液在 NA 培养基上划线,仅长出零星的细菌菌落,未出现与成团泛菌培养特征相似的菌落。结果初步表明,两个亲本和所配制杂交种种子外部均不携带目标菌——成团泛菌。

2.1.2 种子内部带菌的分离

对表面消毒种子经浸提和研磨,取其上清液在 NA 培养基上划线。金玉 9856 和 PS056 种子的浸提液在 NA 培养基上长出大量与成团泛菌培养特征相似的淡黄色、圆形菌落,分离物经纯化后分别标为 Pag1 和 Pag2。母本 OSL190 种子的浸提液未分离到与成团泛菌培养特征相同的细菌菌落。

2.2 种子中细菌分离物的鉴定

2.2.1 种子分离物的培养性状与细胞特征

分离物 Pag1 和 Pag2 在 NA 培养基上的培养特征相同,菌落均为淡黄色,圆形,表面光滑,微凸起,边缘整齐,半透明,较软,略粘。电镜观察结果表明,细菌分离物细胞呈短杆状,两端钝圆,大小为 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m} \times 1 \sim 3 \mu\text{m}$, 周生鞭毛。

2.2.2 种子分离物的生化特征

分离细菌 Pag1 和 Pag2 的革兰氏染色反应为阴性,在 KB 培养基上不产生荧光,在 HL 培养基上测定为兼性厌氧,可使半胱氨酸产生 H_2S ,葡萄糖可产气,硝酸盐还原反应阳性,吲哚反应阳性,伏-波(Voges-Proskauer)试验阳性,苯丙氨酸脱氨酶为阳性,脲酶阴性,产生黄色素。另外,在成团泛菌的两个主要鉴别试验中, Pag1 和 Pag2 分离物对磷霉素具有抗性,并且能够利用 D-酒石酸盐。上述生化特征与成团泛菌主要鉴别特征一致。

2.2.3 基于脂肪酸特征的鉴定和特异性分子鉴定

经 MIS 系统鉴定,分离物 Pag1 和 Pag2 与成团泛菌的相似性超过 0.5,根据 Buyer^[19]的鉴定原则, Pag1 和 Pag2 在分类地位上属于成团泛菌 *P.*

agglomerans.

分子特异性鉴定结果表明, Pag1 和 Pag2 分离物都可扩增出目标条带, 并且直接以金玉 9856 和 PS056 种子的 PBS 浸提液作为模板, 也能获得与分离物扩增相同的特异性条带, 扩增条带的大小为 375bp 与阳性对照 *P. agglomerans* XJ1 和 *P. agglomerans* 1. 2244^T 扩增出的条带相同, 阴性对照未扩增出条带 (图 1)。

2 3 种子分离细菌的致病性测定

阳性对照 *P. agglomerans* XJ1 菌株接种 PS056 植株后, 产生典型的干茎腐症状 (图 2-A); 分离物 Pag2 接种 PS056 植株后, 接种点周围出现明显的褐色扩展病斑 (图 2-B), 与阳性对照的症状相似, 发病率为 100%; 分离物 Pag1 接种 PS056 和金玉 9856 植株后, 接种点也产生褐色坏死斑症状 (图 2-C, D), 接种发病率约 80%; LB 培养液阴性对照在接种点周围无侵染症状 (图 2-E)。

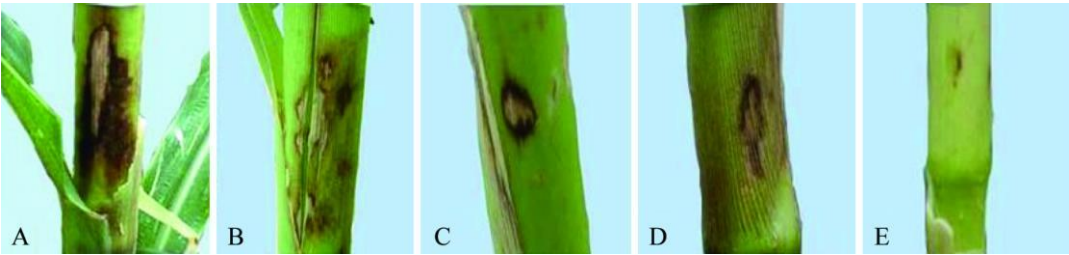


图 2 种子中细菌分离物的致病性

Fig 2 The pathogenicity test of bacterial isolates on maize plants

注: A: 阳性对照 (PS056 接种 *P. agglomerans* XJ1); B: 分离物 Pag2 接种 PS056; C: 分离物 Pag1 接种 PS056; D: 分离物 Pag1 接种金玉 9856; E: 阴性对照 (LB 培养液)。Note: A: Positive control (the inbred line PS056 stalk inoculated with *P. agglomerans* XJ1); B: PS056 inoculated with isolate Pag2; C: PS056 inoculated with Pag1; D: Jinyu9856 inoculated with Pag2; E: negative control (LB broth).

2 4 种子带菌对病害传播的影响

温室菌液浸种试验中, PS056 植株生长至 4~ 5 叶期 (播种 4 周后) 无任何症状出现。但截取接种植株茎部进行分离, 可获得与成团泛菌培养特征相同的分离物。植株生长至 9 周后, 接种处理出现病害症状, 如植株畸形、茎基部出现褐色病斑, 发病率约为 15%。

4 种处理在田间播种后, PS056 种子在幼苗期无症状, 植株在抽穗期产生典型的干茎腐病症状。浸种处理、注射处理和种子未灭菌处理的植株发病率分别为 100%、100% 和 80%, 种子灭菌处理的植株未发病。对照菌 *P. agglomerans* 1. 2244^T 处理种子后的植株症状相同, LB 培养液处理未出现症状。

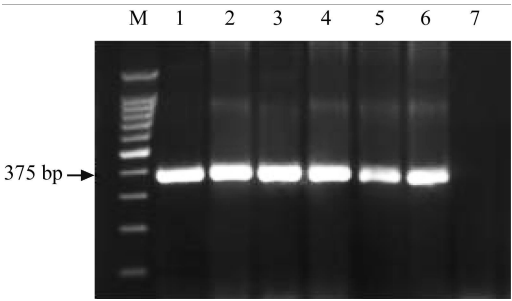


图 1 种子细菌分离物、种子浸提液的成团泛菌特异性分子检测

Fig 1 Molecular detection of *P. agglomerans* to bacterial isolates from seeds and to seed leach liquor

注: M: 100 bp DNA 标记; 1: *P. agglomerans* 1. 2244^T; 2: *P. agglomerans* XJ1; 3: Pag1; 4: Pag2; 5: 金玉 9856 种子的 PBS 浸提液; 6: PS056 种子的 PBS 浸提液; 7: 双蒸水阴性对照。Note: M: 100 bp DNA ladder; lane 1: *P. agglomerans* 1. 2244^T; lane 2: *P. agglomerans* XJ1; lane 3: Pag1; lane 4: Pag2; lane 5: PBS leach liquor from seeds of Jinyu 9856; lane 6: PBS leach liquor from seeds of PS056; lane 7: negative control

2 5 病菌的侵染循环

苗期对 PS056 叶片的检测表明, 在幼苗叶片中能够通过分离或直接分子鉴定的方法检测到成团泛菌的存在, 表明病菌已通过侵染种子并沿植株的维管束系统向地上部组织扩展。在灌浆期, 穗部及以下的 6 个茎节组织内都分离获得了相似的细菌, 不同节位组织所带细菌的量无明显差异。在果穗的籽粒中, 也同样分离到相似的细菌。对纯化后各部位分离物的特异性分子检测结果表明, 这些分离物均为成团泛菌。检测结果证明, 引起细菌干茎腐病的成团泛菌在玉米植株组织中随水分的向上传导而从种子移动到果穗部位, 最终进入到新种子中, 形成了种子带菌, 完成了病菌从种子到种子的侵染循环。

3 讨论

玉米干茎腐病在制种父本 PS056 上的发生导致植株茎秆扭曲、易折, 株高明显下降, 造成雄穗高度低于母本植株, 因此父本花粉不能散落到母本果穗的花丝上, 导致杂交种金玉 9856 的种子生产受到严重影响。此病害主要发生在父本 PS056 上, 母本不发病, 杂交种金玉 9856 仅有轻微发病。通过对种子中细菌分离物的形态学、生化特性、全细胞脂肪酸鉴定以及特异性分子检测, 证明诱发 PS056 发病的原因是种子带有致病的成团泛菌。种子中的病菌能够随植株的生长, 通过维管束系统, 再度传到果穗的籽粒中, 完成致病细菌从种子到种子的侵染循环。种子带菌和系统侵染是干茎腐病在制种田中的 PS056 上连年发生和在不同地区 PS056 植株上发生的主要原因之一。

许多重要的植物细菌性病害都能够通过种子带菌的方式进行传播, 其传播和循环中需要完成从发病植株至种子的传播, 然后再完成从带菌种子至植株的传播。Tebaldi 等^[20]采用接种植株的方式, 证明黑腐病菌 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 在西兰花上能够顺利完成从植株到种子的侵染, 从病株上收获的种子, 病菌的种传率高达 76% ~ 100%。Jain & Agrawal^[21]对由 *Xanthomonas axonopodis* pv. *cyamopasidis* 引起的瓜尔豆细菌疫病的研究表明, 自然侵染下不同来源样本的带菌率为 95.3%, 种子带菌率为 7.5% ~ 100%, 病菌可以完成从种子到种子的侵染循环。Camara 等^[22]采用茎秆穿刺接种的方式, 证明了引起菜豆枯萎病的致病细菌 *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* 能够完成从植株到种子的侵染过程, 在抗性水平不同的品种上导致不同程度的种子带菌率 (0 ~ 44.2%)。Okechukwu 等^[23]研究表明, 无论是常用浸种接种还是直接种植从自然发病植株上收获的豇豆种子, 引起豇豆细菌疫病的病菌 *Xanthomonas campestris* pv. *vignicola* 都能够从种子向植株传播, 引起种子萌发力降低、6% ~ 24% 的萌发幼苗死亡和 26% ~ 49% 的成株发病。因此, 明确细菌病害的传播方式和传播过程, 对于选择有效的病害控制措施非常重要^[24]。

成团泛菌长期被认为是一种腐生菌或植物病斑上的次生菌^[25], 也是土壤中的固氮菌之一^[26-27], 而作为植物致病菌的报道多源于近年。例如, 在我国

成团泛菌引起水稻颖壳褐变病^[28-29], 在墨西哥引起玉米和高粱叶枯病和维管束枯萎病^[30], 在巴西引起尖尾芋叶斑病^[31], 在美国成为洋葱叶疫病和鳞茎腐烂病的病原^[32], 在津巴布韦引起珍珠粟叶尖干枯病^[33]。此外, 成团泛菌在一定条件下也是人的致病菌^[34]。因此, 今后可能会揭示更多的由成团泛菌引起的植物病害。

成团泛菌是一类土壤细菌, 本试验也证明在甘肃发病田土壤中可以分离获得成团泛菌, 因此不排除在种子完全不带菌的条件下, 土壤中的成团泛菌也可以成功侵染种子, 从而引起干茎腐病。有关成团泛菌与干茎腐病的关系和其它侵染途径的研究正在进行中。

参考文献 (References)

- [1] Wang X M. First report of maize bacterial stalk dry rot in China. *Phytopathology*, 2008, 98 (6) suppl: S166
- [2] White D G. Compendium of corn diseases (3rd ed). USA: APS Press, 1999
- [3] Ivanoff S S. Stewart's wilt disease of corn with emphasis on the life history of *Phytophthora stewartii* in relation to pathogenesis. *Journal of Agricultural Research*, 1933, 47 (10): 749 - 770
- [4] Block C C, Hill J H, McGee D C. Seed transmission of *Pantoea stewartii* in field and sweet corn. *Plant Disease*, 1998, 82 (7): 775 - 780
- [5] Michener P M, Pataky J K, White D G. Rates of transmitting *Erwinia stewartii* from seed to seedlings of a sweet corn hybrid susceptible to Stewart's wilt. *Plant Disease*, 2002, 86 (9): 1031 - 1035
- [6] Goszczynska T, Mobio V M, Venter S N, et al. Isolation and identification of *Pantoea ananatis* from onion seed in South Africa. *Seed Science and Technology*, 2006, 34 (3): 655 - 668
- [7] Grun M, Camboh M, Rudolph K, et al. Elimination of bean seed-borne bacteria by thermotherapy and meristem culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1998, 52: 79 - 82
- [8] 郭翼奋, 梁再群, 黄洪. 引种材料玉米枯萎菌持续恒温灭菌技术. *植物保护*, 1990, 16 (6): 41 - 42
- [9] Schaad N W, Jones J B, Chun W. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria (3rd ed). Minnesota: APS Press, 2001
- [10] 任欣正. 植物病原细菌的分类和鉴定. 北京: 中国农业出版社, 1994
- [11] Roberts S J, Koenraad H. ISTA-PDC technical report revised method for detection of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in brassica seed. ISTA Method Validation Report 1

2003: 1–9

- [12] Khan A, Ries SM, Pataky JK. Transmission of *Erwinia stewartii* through seed of resistant and susceptible field and sweet corn. *Plant Disease*, 1996, 80(4): 398–403
- [13] 中国科学院微生物研究所细菌分类组. 一般细菌常用鉴定方法. 北京: 科学出版社, 1978: 111–114
- [14] DeÉtoile A, Decé D, Courant S, et al. Phylogeny and identification of *Pantoea* species and typing of *Pantoea agglomerans* strains by multilocus gene sequencing. *Journal of Clinical Microbiology*, 2009, 47(2): 300–310
- [15] Janse JD. Pathovar discrimination within *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* using whole cell fatty acid analysis and pathogenicity as criteria. *Systematic and Applied Microbiology*, 1991, 13(1): 79–84
- [16] Buyer JS. Rapid and sensitive FAME analysis of bacteria by cold trap injection gas chromatography. *Journal of Microbiological Methods*, 2006, 67(1): 187–190
- [17] Bertone S, Giacomini M, Ruggiero C, et al. Automated systems for identification of heterotrophic marine bacteria on the basis of their fatty acid composition. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(6): 2122–2132
- [18] Hebbar K P, Davey A G, Merrin J, et al. *Pseudomonas cepacia*: a potential suppressor of maize soilborne diseases—seed inoculation and maize root colonization. *Soil Biology and Biochemistry*, 1992, 24(10): 999–1007
- [19] Buyer JS. Improved fast gas chromatography for FAME analysis of bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 2003, 54(1): 117–120
- [20] Tebali N D, Panizzi R C, Sader R. Detection, transmission and effect of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in the physiological quality of broccoli seeds. *Summa Phytopathologica*, 2007, 33(3): 290–293
- [21] Jain R, Agrawal K. Incidence and seed transmission of *Xanthomonas axonopodis* pv. *cyanopsidis* in cluster bean. *Journal of Agricultural Technology*, 2011, 7(1): 197–205
- [22] Camara R C, Vigo S C, Maringoni A C. Plant-to-seed transmission of *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* in a dry bean cultivar. *Journal of Plant Pathology*, 2009, 91(3): 549–554
- [23] Okechukwu R U, Ekpo E J A, Okechukwu O C. Seed to plant transmission of *Xanthomonas campestris* pv. *vignicola* isolates in cowpea. *African Journal of Agricultural Research*, 2010, 5(6): 431–435
- [24] McGee D C. Epidemiological approach to disease management through seed technology. *Annual Review of Phytopathology*, 1995, 33: 445–446
- [25] Brandbury J F. Guide to plant pathogenic bacteria. UK: CAB, 1986
- [26] Potrikus C J, Breznak J A. Nitrogen-fixing *Enterobacter agglomerans* isolated from guts of wood-eating termites. *Applied and Environmental Microbiology*, 1977, 33(2): 392–399
- [27] Klingnüller W. Nitrogen-fixing *Enterobacter*: A cornerstone in nif-gene group development. *Naturwissenschaften*, 1991, 78(1): 16–20
- [28] 洪永聪, 胡方平, 黄晓南. 成团泛菌 (*Pantoea agglomerans*) 对稻谷的致病性. *福建农林大学学报 (自然科学版)*, 2002, 31(1): 1–3
- [29] 谢关林, 徐传雨, 任小平. 稻谷病原细菌 *Pantoea agglomerans* 的特征化研究. *浙江大学学报*, 2001, 27(1): 317–320
- [30] Morales-Valenzuela G, Silva-Rojas H V, Ochoa-Martí D. First report of *Pantoea agglomerans* causing leaf blight and vascular wilt in maize and sorghum in Mexico. *Plant Disease*, 2007, 91(10): 1365
- [31] Romero R S, Macagnan D, Mendonça H L, et al. Bacterial spot of Chinese taro (*Allocasia cuatrecasasii*) in Brazil induced by *Pantoea agglomerans*. *Plant Pathology*, 2007, 56(6): 1038
- [32] Edens D G, Gitaitis R D, Sanders F H, et al. First report of *Pantoea agglomerans* causing a leaf blight and bulb rot of onions in Georgia. *Plant Disease*, 2006, 90: 1551
- [33] Frederickson D E, Monyo E S, King S B, et al. A disease of pearl millet in Zimbabwe caused by *Pantoea agglomerans*. *Plant Disease*, 1997, 81(8): 959
- [34] Cruz A T, Cazacu A C, Allen C H. *Pantoea agglomerans*: a plant pathogen causing human disease. *Journal of Clinical Microbiology*, 2007, 45(6): 1989–1992