

# 根茎病害研究通讯

*Communications in Plant Root and Stem Diseases Research*

(2017 年第 1 期, 总第 25 期)

主办: 西南大学植物保护学院, 重庆烟草科学研究所

主编: 丁伟

2017 年 1 月 30 日

工作动态

## 中国烟草总公司重点项目“针对烟草青枯病的根际微生态调控防治机制及关键技术研究”年终评审会顺利召开

近期, 由重庆烟草科学研究所组织的 2016 年在研科研项目的年终评审会在重庆北碚缙云山召开, 西南大学丁伟教授所承担的中国烟草总公司重点项目“针对烟草青枯病的根际微生态调控防治机制及关键技术研究”参加了此次评审会。重庆市烟草科学研究所徐宸、汪代斌副所长, 重庆市烟草公司科技处李常军副处长, 西南大学刘怀教授为项目主评审专家, 蒋士君教授、刘新民教授、潘文杰研究员为评审专家。

1 月 5 日上午, 会议在缙云山天香苑会议室举行, 徐宸副所长主持了此次会议, 丁伟教授首先就 2016 年项目的总体目标与任务完成情况进行了详细汇报, 指出“2016 年主要完成了对不同连作年限土壤微生态特征的分析、影响青枯病发生的关键微生物种群分析、青枯病的关键微生态调控技术研发、以及技术集成示范与应用等”。通过 2016 年的工作的开展, 项目组顺利完成了预期的任务与考核指标, 尤其在土壤微生态的研究方面, 已经初步明确了土壤中关键的微生物种群, 且技术集成示范效果逐渐凸显。

随后, 评审专家刘新民教授与蒋士君教授高度评价了项目的整体进展, 并一致认为从微生态的角度控制土传青枯病将会有重要的突破, 对后期的项目的开展, 两位教授也提出了意见与建议, 如土壤连作年限的微生态评估要缩短之间年限跨度, 要关注土壤中的 Fe 离子与青枯病的关系, 关注内生菌在土壤中的作用等, 这些建议也将为项目后期的开展提供指导。

该项目是 2016 年开始实施的中国烟草总公司重点项目, 通过一年的研究, 丁伟教授研究团队已经取得了显著的研究成果, 发表 SCI 论文 5 篇, 总影响因子达到 13.0 以上, 这将为后期的研究奠定良好的基础。



图1 评审会现场



图2 丁伟教授汇报项目年度进展

(李石力 供稿)

## 烟草绿色防控重大专项项目“基于拮抗菌的青枯病/黑胫病 绿色防控技术研究与应用”2017 年项目方案论证会 在重庆召开

2017 年国家烟草专卖局烟草绿色防控重大专项顺利启动，西南大学丁伟教授任根茎病害绿色防控技术首席专家，主要承担了全国武陵山区、秦巴山区、武夷山区，以及安徽、河南、山东烟区的根茎病害的绿色防控。2017 年率先启动的“基于拮抗菌的青枯病黑胫病绿色防控技术研究与应用”项目主要在重庆彭水、贵州遵义、河南南阳进行研究、示范与推广。1 月 13 日，重庆地区 2017 年实施方案论证会在重庆烟草公司召开，重庆市烟草公司科技处李常军副处长，重庆烟草科学研究所徐宸副所长、汪代斌副所长，彭水烟草分公司吴树成经理等相关领导参加了这次论证会。

1 月 13 日上午，项目首席科学家丁伟教授首先对该项目的背景意义，主要的研究目标与内容，以及 2017 年在彭水地区要开展的基础研究、应用研究与示范推广等方面工作做了详细的汇报。他指出，此项目的实施重点在于关键技术与物化产品的研发，而国家局重点项目根际微生态项目是以基础研究为主，探究影响根茎病害发生的微生态机制，两个项目相辅相成，协同研究，最终能够形成武陵秦巴山区根茎病害的系统控制技术，在全国进行实施推广。

针对项目的方案，李常军副处长也提出了几点建议与意见，指出，首先要细化方案，明确分工，形成项目实施中的领导、技术等工作小组，并配置专人负责示范区、推广区、辐射区的工作落实；其次要对经费的配套进行详细的规划；建立相应的考核标准与考核指标。徐宸副所长也指出，要根据不同发病的种类与程度进行等级划分，在技术推广过程中，要加强物化产品，简易技术的研发，形成可用性强的推广模式等。

通过此次会议的召开，初步形成了“基于拮抗菌的青枯病黑胫病绿色防控技术研究与应用”项目方案，为后期技术集成示范的建立以及绿色防控在重庆地区的推广打下了良好的基

础。



图 3 丁伟教授汇报项目方案



图 4 方案论证会现场

(李石力 供稿)

## 丁伟教授参加贵州遵义“基于拮抗菌的青枯病/黑胫病绿色防控技术研究与应用”项目启动会

2016年11月，国家烟草专卖局印发《烟草绿色防控重大专项方案》，实施启动烟草绿色防控重大专项，西南大学丁伟教授担任了根茎病害绿色防控技术首席科学家。其中2017年首批项目“基于拮抗菌的青枯病黑胫病绿色防控技术研究与应用”在贵州遵义建立集成示范区，进行推广示范。1月19日，贵州省遵义市烟草公司召开关于此项目的启动研讨会，项目负责人丁伟教授、徐宸副所长，遵义市烟草公司副经理叶江平，贵州烟草科学研究院植保室主任商胜华等参加了此次会议。

1月19日上午，会议在遵义市烟草公司二楼大会议室召开，首先丁伟教授介绍了绿色生态项目在全国的整体布局与规划，并着重介绍了根茎病害在我国发生的严重度，以及给我国烟草生产造成的巨大损失，随后结合绿色防控中拮抗菌剂项目的目标与任务，强调了首先要基本摸清遵义地区植烟土壤的微生态特征，其次要通过核心示范区、展示区的建立，探究基于拮抗菌的绿色生态防控技术体系，最终能够将技术体系推广于遵义地区，面积达到植烟总面积的70%以上。

下午，丁伟教授在遵义公司相关领导的陪同下，对绥阳县的植烟土壤、根茎病害的发生、核心示范区的选择进行考察。通过实地考察，了解到绥阳县植烟地区的植烟基础条件优越，但部分地区仍然存在根茎病害的轻度偏中度发生状况，土壤pH值在6.0左右，酸化程度不严重，通过与当地技术人员交流，对当地的植烟气候、土壤、种植等基本情况有了初步了解。但对于核心示范区的建设还有待进一步进行考察。



图 5 丁伟教授介绍项目整体情况



图 6 项目启动相关领导、专家合影



图 7 丁伟教授考察绥阳县植烟地



图 8 丁伟教授与当地技术人员座谈

(李石力 供稿)

## 研究进展

### 咖啡酸、对香豆酸对青枯菌的生物活性评价

根系分泌物是植物体通过地下部分和环境之间进行物质、能量以及信息传递的重要媒介，且根系分泌物调节植物与微生物的互作，在抑制病原微生物中有重要作用。已有研究表明，在水培条件下收集经青枯菌 QL-Rs1115 菌株侵染的番茄的根系分泌物，发现不同于正常生长的番茄，经青枯菌侵染的番茄可以显著提高咖啡酸的分泌量，并进一步证明咖啡酸在离体条件下对青枯菌有抑菌作用。对香豆酸是已报道的具有抑菌活性的物质，二者都是木质素合成过程中的中间产物，那么，这两种物质对青枯菌 CQPS-1 菌株是否也具有抑菌活性？

西南大学植物青枯病研究团队研究了咖啡酸和对香豆酸的抑菌活性、最低抑菌浓度 (MIC)，最低杀菌浓度 (MBC)。结果表明，咖啡酸在 B 培养基条件下基本没有抑菌活性，但在 NA 固体培养基条件下，咖啡酸的 MIC 和 MBC 均为 160  $\mu\text{g/ml}$ 。而对香豆酸具有一定的抑菌活性，浓度为 20  $\mu\text{g/ml}$  抑菌率为 24.1%，浓度为 200  $\mu\text{g/ml}$  抑菌率为 27.8%，相应的 MIC 和 MBC 均为 120  $\mu\text{g/ml}$ 。对香豆酸对青枯菌的抑菌活性优于咖啡酸，咖啡酸在 B 培养基下在该浓度条件下未表现出抑菌活性。

表 1 不用药剂的 MIC 和 MBC 测定

Table 1 The minimum inhibitory concentrations (MICs) and minimum bactericidal concentrations (MBCs) of compound against *R. solanacearum* in the B medium.

| 药剂浓度 $\mu\text{g/ml}$ | 5 | 10 | 20 | 40 | 80 | 120 | 160 | 200 | 240 |
|-----------------------|---|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|
| 咖啡酸                   | + | +  | +  | +  | +  | +   | -   | -   | -   |
| 对香豆酸                  | + | +  | +  | +  | +  | -   | -   | -   | -   |
| DMSO                  | + | +  | +  | +  | +  | +   | +   | +   | +   |
| 清水对照                  | + | +  | +  | +  | +  | +   | +   | +   | +   |

表 2 不同药剂的抑菌活性

Table 2 The antibacterial activity of compound against *R. solanacearum*.

| 化合物  | 抑菌率 (%)             |                      |
|------|---------------------|----------------------|
|      | 20 $\mu\text{g/ml}$ | 200 $\mu\text{g/ml}$ |
| 咖啡酸  | —                   | —                    |
| 对香豆酸 | 24.1                | 27.8                 |

(王姣 供稿)

成果展示

## 不同抗性烤烟品种根际微生物功能多样性分析

运用 Biology-ECO 技术, 研究分析了不同青枯病烤烟抗性品种根际微生物功能多样性。旺长期不同烤烟品种土壤微生物群落平均颜色变化率 (AWCD)  $\text{PVH1452} > \text{K326} > \text{云烟 87} > \text{云烟 97}$  (图 9)。由图 10 可知, 除氨基酸类、聚合物、胺类外, 不同处理土壤微生物对每一碳源的利用差异显著 ( $P < 0.05$ )。不同处理之间抗病品种 PVH1452 的土壤微生物对碳水化合物、羧酸类、酚酸类的利用显著高于云烟 87、97, 而中抗品种 K326 的土壤微生物碳水化合物、羧酸类显著高于云烟 87。

由表 3 可知, 从微生物的功能多样性指数整体分析, 抗病品种 PVH1452 最优, 并且多样性指数与其他处理具有显著差异。其次为 K326, 感病云烟 87、97 较为接近。如 96h 的数据表明, 抗病品种 PVH1452 Shannon 值指数 ( $3.44 \pm 0.02$ )、Simpson 指数 ( $0.95 \pm 0.001$ )、丰富度指数 ( $28.80 \pm 0.30$ )、MicIntosh 指数 ( $2.32 \pm 0.03$ ) 显著高于与感病品种云烟 97 Shannon 值指数 ( $3.23 \pm 0.03$ )、Simpson 指数 ( $0.92 \pm 0.001$ )、丰富度指数 ( $26.33 \pm 0.67$ )、MicIntosh 指数 ( $1.78 \pm 0.07$ ), 具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

旺长期烤烟根际土壤微生物对 31 种碳源利用的主成分分析结果表明 (图 11), 不同品



## E3 泛素连接酶对植物抗病性的调控

泛素/蛋白酶体途径是真核生物细胞中重要的翻译后修饰作用，它参与了植物大多数的生理活动，包括细胞周期、激素信号传导、衰老、细胞死亡等。泛素连接酶作为蛋白质泛素化途径中的第三个酶，主要负责对靶蛋白的特异性识别，进而对其进行泛素化修饰。近年来，越来越多的研究证明 E3 泛素连接酶参与了植物抗病免疫反应的各个过程，主要包括对植物模式识别受体诱导的免疫反应（PTI）、效应蛋白识别的免疫反应（ETI）、抗病相关信号途径进行调控。特别地，某些病原菌的效应因子也具有 E3 泛素连接酶活性，可以诱导植物的抗病反应，如假单胞菌无毒蛋白 AvrPtoB 与番茄激酶 Fen 互作，激活 ETI 反应。

E3 泛素连接酶通过调控植物抗病通路相关基因的转录及植物激素水平，增强植株对病原菌的抗病性。辣椒的 *CaRING1* 基因具有泛素连接酶活性，其表达与辣椒水杨酸通路相关基因 *CaBPR1*、防御素基因 *CaDEF1*、过敏反应正调控因子 *CaPO2* 的表达呈正相关。同时，无毒的野油菜黄单胞菌接菌后，*CaRING1* 过表达植株内水杨酸与葡萄糖苷共轭水杨酸的水平显著高于野生植株。烟草 *NtRING1* 调控抗病相关基因 *PR2a*、*PR3a* 等的表达，增强烟草对  $\beta$ -megaspermin 的抗性。E3 泛素连接酶还能调节植物对非生物胁迫的适应性。有研究表明，玉米的 *ZmRFP1* 基因能诱导烟草 *SOD* 和 *CAT* 基因的表达，同时增强超氧化物歧化酶与过氧化氢酶的活性，增强烟草对干旱的耐受性。

研究 E3 泛素连接酶与植物抗病性的关联有助于更好地理解植物与病原菌的互作，但是有些 E3 泛素连接酶虽然发现参与植物抗病调控，但其具体分子机理尚不清楚。如拟南芥 *PUB22*、*PUB23* 和 *PUB24* 虽然已证明参与能抑制植物的 PTI 免疫过程，但是具体的作用底物和参与的上游信号途径还未清楚。因此，要更好的解释植物对抗病原菌的机理，还需进一步加深对 E3 泛素蛋白功能的认识。

（唐元满 供稿）

### 最新主要参考文献

1. Tahir H A S, Qin G, Wu H, et al. Bacillus volatiles adversely affect the physiology and ultra-structure of *Ralstonia solanacearum* and induce systemic resistance in tobacco against bacterial wilt[J]. Scientific Reports, 2017, 7.
2. Huang W, Zhang H, Xu J, et al. Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for the Rapid Detection of *Ralstonia solanacearum* Phylotype I Mulberry Strains in China[J]. Front Plant Sci, 2017, 8.
3. Sun Y, Li P, Deng M, et al. The *Ralstonia solanacearum* Effector RipAK Suppresses Plant

- Hypersensitive Response by Inhibiting the Activity of Host Catalases[J]. Cellular Microbiology, 2017.
4. Chen J, Li S, Luo J, et al. Graphene Oxide Induces Toxicity and Alters Energy Metabolism and Gene Expression in *Ralstonia solanacearum*[J]. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2017, 17(1): 186-195.
  5. Wei Z, Huang J, Yang T, et al. Seasonal variation in the biocontrol efficiency of bacterial wilt is driven by temperature - mediated changes in bacterial competitive interactions[J]. Journal of Applied Ecology, 2017.
  6. Abdurahman A, Griffin D, Elphinstone J, et al. Molecular characterization of *Ralstonia solanacearum* strains from Ethiopia and tracing potential source of bacterial wilt disease outbreak in seed potatoes[J]. Plant Pathology, 2017.
  7. Oliveira W S, Coelho I L, Oliveira J R S, et al. Biological control of the bacterial wilt *Ralstonia solanacearum* by bioprotector with fungi chitosan from *Cunninghamella elegans* on tomatoes[J]. African Journal of Agricultural Research, 2017, 12(1): 42-49.
  8. 邓家军, 张仕祥, 张富生, 张艳玲, 胡锋, 李辉信. 烟草幼苗根系分泌自毒物质种类及 PAEs 对根系抗氧化性能的影响. 生态学报, 2017,37(2): 495-504.
  9. Nakaho K, Seo S, Ookawa K, et al. Involvement of a vascular hypersensitive response in quantitative resistance to *Ralstonia solanacearum* on tomato rootstock cultivar LS - 89[J]. Plant Pathology, 2017, 66(1): 150-158.
  10. Kumar A, Munjal V, Sheoran N, et al. Draft Genome Sequence of Highly Virulent Race 4/Biovar 3 of *Ralstonia solanacearum* CaRs\_Mep Causing Bacterial Wilt in Zingiberaceae Plants in India[J]. Genome Announcements, 2017, 5(1): e01420-16.
  11. Puigvert M, Guarischi-Sousa R, Zuluaga P, et al. Transcriptomes of *Ralstonia solanacearum* during Root Colonization of *Solanum commersonii*[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8.
  12. 段曦, 孙晨晨, 孙胜楠, 等. 嫁接辣椒根系分泌物对根腐病和青枯病的影响[J]. 园艺学报, 2017, 44(2): 297-306.
  13. Barman A, Buragohain C, Ray S K. Disruption of comA homolog in *Ralstonia solanacearum* does not impair its twitching motility[J]. Journal of Basic Microbiology, 2017, 57(3): 218-227.
  14. 李笑, 成玉富, 杨旭. 茄科植物 WRKY 转录因子的研究进展[J]. 园艺学报, 2017, 44(1): 170-178.
  15. Yang Z B, He C, Ma Y, et al. Jasmonic Acid Enhances Al-Induced Root Growth Inhibition[J]. Plant Physiology, 2017, 173(2):1420.
  16. Vaerenbergh J, Müller P, Elphinstone J G, et al. Euphresco inter - laboratory comparison (2009–2012) on detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* and *Ralstonia*



*solanacearum* in potato tubers: proposal to include TaqMan real - time PCR as a primary (core) screening test in EU/EPPO standard methods[J]. EPPO Bulletin, 2017, 47(1): 24-32.

17. 董艳, 董坤, 杨智仙, 朱锦惠, 汤利, 郑毅. 肉桂酸对蚕豆枯萎病发生的影响及间作缓解机制[J]. 土壤学报, 2017, 54(2): 503-515.
18. Fu L, Penton C R, Ruan Y, et al. Inducing the rhizosphere microbiome by biofertilizer application to suppress banana Fusarium wilt disease[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2017, 104:39-48.

(王姣 供稿)