

根茎病害研究通讯

Communications in Plant Root and Stem Diseases Research

(2019年第11期, 总第81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

2019年11月30日

工作动态

西南大学烟草植保团队李石力博士等参加第八届植物病原细菌学术研讨会

11月17日, 西南大学烟草植保团队李石力博士带领博士研究生刘颖、张淑婷和江其朋一起赴广州参加中国植物病理学会第八届植物病原细菌学术研讨会。本次研讨会主题为“植物细菌病害绿色防控及解决方案”, 会议由中国植物病理学会植物病原细菌专业委员会主办, 广东省农业科学院植物保护研究所和广东省植物保护新技术重点实验室承办, 中国农业科学院植物保护研究所和植物病虫害生物学国家重点实验室协办, 会议旨在总结、交流并创新我国植物细菌病害研究领域的新理论、新技术和新成果。

本次会议邀请了来自中国农科院植保所、微生物所、资源规划所、水稻所、华南农业大学、上海交通大学、香港城市大学、南京农业大学、扬州大学、湖南农科院、广东省农科院植保所和江苏省农科院植保所等多家高校和科研单位的科研工作者作了会议报告, 报告内容涉及病原细菌的致病系统研究进展、病原细菌与寄主互作关系研究、根际微生物组鉴定及其生防潜力挖掘、植物细菌性病害的发生和防治现状等领域, 代表着国内植物病原细菌相关研究的先进研究水平。

本次会议的主题“绿色防控”是本研究团队一直以来研究根茎病害防控的理念。通过与国内各植物细菌病害研究单位的交流, 本团队能更好地将自身的研究与其他相关领域的研究进行比较与结合, 同时, 各个研究团队的前沿研究手段和技术值得我们学习和借鉴, 这为今后的根茎病害绿色防控研究提供了有力支撑。



图1 本团队参会人员合影

研究进展

不同施用量土壤改良剂对烟草青枯病的控制效果

自上世纪 80 年代起,我国主要农田出现严重酸化的现象,20 年来我国主要农田土壤 pH 值平均下降了约 0.5 个单位,相当于土壤酸量(H⁺)在原有基础上增加了 2.2 倍。经过研究发现,烟草青枯病的发生与土壤酸化之间有密切关系,酸性条件下更有利于青枯病病原菌的增殖。西南大学烟草植保团队经过多次筛选对比,发现牡蛎壳粉和硅肥是改良土壤酸性的两种有效材料。为了更好地在实际生产中推广,本团队详细评价了其单施、复配使用及不同施用量在大田条件下对酸性土壤改良、烟草生长及烟草青枯病的影响,具体结果如下。

由实验结果(表 1)可知,硅肥处理对烟苗的早生快发有较好的促进作用,较对照可以提前一个星期进入团棵期;牡蛎壳粉处理较对照提前三天进入团棵期。硅肥各处理在旺长期和现蕾期的促进效果逐渐降低至与牡蛎壳粉处理相至,但对比空白对照仍提前 4-5 天。

表 1 不同施用量土壤改良剂对烟草生育期的影响

处理	移栽期	团棵期	旺长期	现蕾期
牡蛎壳粉 50 kg/667 m ²	4.18	5.23	6.11	6.18
牡蛎壳粉 100 kg/667 m ²	4.18	5.23	6.10	6.18
牡蛎壳粉 200 kg/667 m ²	4.18	5.23	6.10	6.18
硅肥 20 kg/667 m ²	4.18	5.21	6.09	6.18
硅肥 40 kg/667 m ²	4.18	5.19	6.09	6.17
硅肥 80 kg/667 m ²	4.18	5.19	6.08	6.18
牡蛎壳粉 25 kg+硅肥 10 kg/667 m ²	4.18	5.21	6.10	6.18
牡蛎壳粉 50 kg+硅肥 20 kg/667 m ²	4.18	5.20	6.10	6.18
牡蛎壳粉 100 kg+硅肥 40 kg/667 m ²	4.18	5.20	6.08	6.17
CK 空白对照	4.18	5.26	6.14	6.22

烟株打顶后 7 天各处理在烟株株高、最大叶长、最大叶宽和最大叶面积上均与空白处理有明显差异(表 2),其中硅肥 80 kg/667 m² 处理的促长效果最优,比空白对照在株高、最大叶长、最大叶宽、最大叶面积分别增加 15.24 cm、6.08 cm、5.06 cm、338 cm²,牡蛎壳粉与硅肥复混次之;硅肥处理间对烟株促长效果与施用量成正比关系,但 200 kg/667 m² 牡蛎壳粉处理后烟株农艺性状差于 100 kg/667 m² 及 50 kg/667 m² 处理。

表 2 不同施用量土壤改良剂对烟草打顶后 7d 农艺性状的影响

处理	株高 (cm)	最大叶长 (cm)	最大叶宽 (cm)	最大叶面积(cm ²)
牡蛎壳粉 50 kg/667 m ²	137.55±3.00abc	69.33±1.90abc	31.75±1.41abc	1401.99±84.79abc
牡蛎壳粉 100 kg/667 m ²	138.20±3.62abc	73.63±1.81c	33.03±1.09bc	1548.08±78.35c
牡蛎壳粉 200 kg/667 m ²	131.90±3.99ab	70.00±1.93abc	30.55±1.08abc	1359.47±70.44abc
硅肥 20 kg/667 m ²	142.15±3.03bc	69.18±1.37abc	32.83±1.09bc	1443.69±67.13bc
硅肥 40 kg/667 m ²	142.25±3.20bc	70.54±1.37abc	31.65±0.47abc	1418.31±45.17abc
硅肥 80 kg/667 m ²	144.35±2.46c	71.78±1.22bc	33.65±0.79c	1533.54±49.78bc

牡蛎壳粉 25 kg+硅肥 10 kg/667 m ²	140.23±3.89abc	68.23±1.28ab	30.05±0.76abc	1304.42±54.93ab
牡蛎壳粉 50 kg+硅肥 20 kg/667 m ²	139.93±4.54abc	68.97±1.76abc	29.83±1.46ab	1313.00±94.84abc
牡蛎壳粉 100 kg+硅肥 40 kg/667 m ²	140.08±4.37abc	67.55±1.96ab	31.44±1.50abc	1357.33±100.30abc
CK 空白对照	129.11±2.56a	65.79±1.42a	28.59±1.13a	1195.54±61.06a

注：表中数据为平均数±标准误，同列数据后不同字母表示处理间差异达 5%显著水平

同时，在发病高峰期对各处理的土壤 pH 及青枯病的发生情况进行调查。由分析结果可知，从土壤 pH 值方面来看，随着各处理施用量的提升，土壤 pH 值也逐步随之提高，其中 200 kg/667 m² 牡蛎壳粉施用可以提升土壤 pH 值 1.32 个单位。土壤 pH 值上调越高，青枯病发病越轻，200 kg/667 m² 牡蛎壳粉处理对青枯病的防效最高，达到 84.43%。

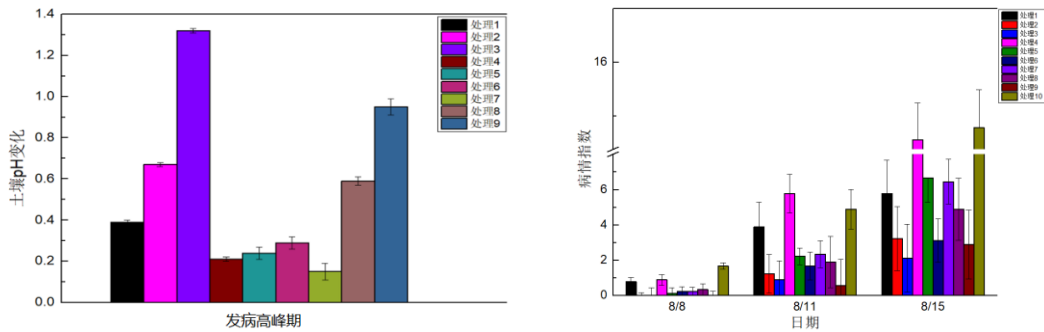


图 2 不同施用量土壤改良剂处理后发病期土壤 pH 值（左）及青枯病病情指数情况（右）

（姬佳旗 供稿）

低温长期培养的青枯菌碳源代谢能力增强

近年来，由于气候环境、种植结构调整等多方面原因，青枯病的危害范围有逐渐向高纬度高海拔冷凉地区扩展蔓延之势。青枯菌在长期生存在相对较低的温度环境下会有怎样变化，烟草绿色防控根茎病害首席团队就这一科学问题进行深入探究。

本研究选取烟草青枯菌菌株 CQPS-1 作为研究对象，将其在 20℃ 下长期传代培养，并设置常规培养温度 30℃ 作为对照。经过约 200 天的培养后，评价了菌株的各个特性，包括运动性、生物膜、代谢能力等。从评价结果可知，菌株长期在 20℃ 培养后，出现了能在平板上产生褐色物质的菌株（图 3，20-4 和 20-6）。运动性实验结果表明长期在平板上培养的菌整体运动性下降。

同时，本研究选取了 3 株（20-4、20-6 和 20-10）在 20℃ 下长期培养的菌株进行代谢活性评价，代谢活性主要采用 Biolog 碳源板（PM1 和 PM2）进行。由结果可知，低温长期培养菌株在 29 种碳源中表现出增强的代谢活性，其中 PM1 板有 15 种，PM2 板有 14 种（图 4）。由此推测，低温环境能促进菌株的代谢活性，让其具有更强的生存能力。而增强的代谢活性在菌株与寄主互动中是否具有积极作用有待进一步深入研究。

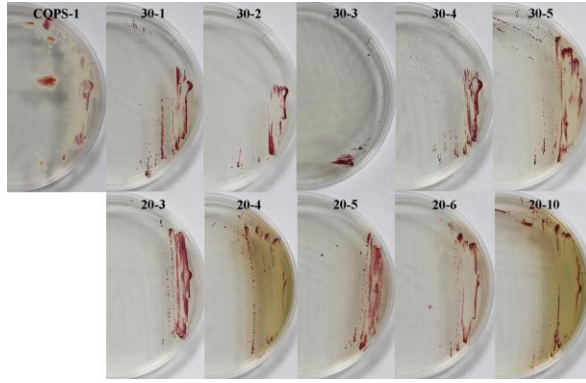


图3 青枯菌在20°C长期培养后的培养表型观察

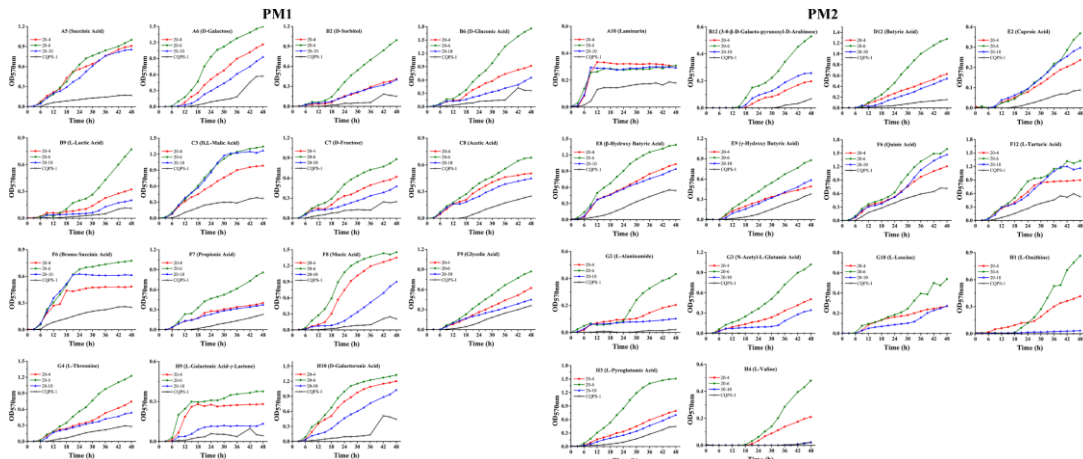


图4 不同 pH 环境中长期培养后青枯菌的运动特性评价

(刘颖 供稿)

生防菌 *Hypocrea lixii* TMN-1 对烟草生长的影响

木霉是一种适应力强，世界分布广泛的真菌类群，也是含量丰富的一种微生物资源，是最具生防潜力的生防因子之一。木霉对农作物的促生抗病作用在农业应用上具有十分重要的意义。前期的研究表明，TMN-1 菌株在室内及田间对烟草青枯病均具有良好的防控效果，同时，在田间烟草的生育期前期均观察到使用 TMN-1 菌株对烟草具有一定的促生效果，于是继续对 TMN-1 对烟草生长的影响进行室内活性测定。

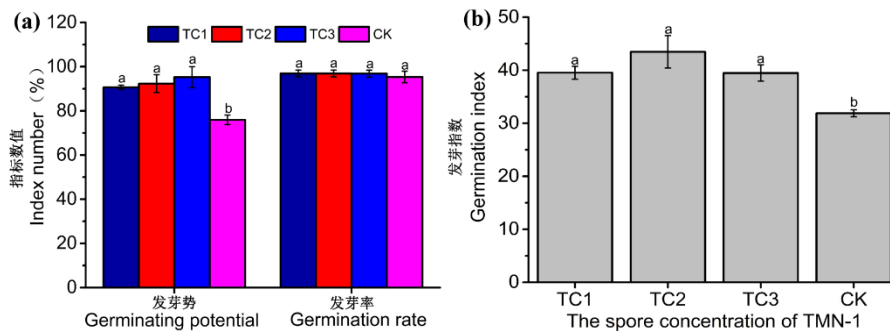


图5 不同浓度的木霉孢子悬浮液对烟草种子的影响 (a: 对烟草种子发芽势和发芽率的影响; b: 对烟草种子发芽指数的影响)

注：TC1：木霉孢子悬浮液 1×10^8 cfu/ml 浸种；TC2：木霉孢子悬浮液 1×10^6 cfu/ml 浸种；TC3：木霉孢子悬浮液 1×10^4 cfu/ml 浸种；CK：无菌水浸种。

由图 5 可以看出，烟草种子经过不同浓度的木霉孢子悬浮液浸泡后，可以显著地提高烟草种子的发芽势 ($P=0.05$)，烟草种子在 60h 后达到发芽高峰期，与对照组相比，发芽势和发芽指数分别提高了 22.03%、22.92%、20.86%，19.33%、36.31%、23.81%。96h 后，计算烟草种子发芽率，各个处理间种子发芽率没有显著性差异。

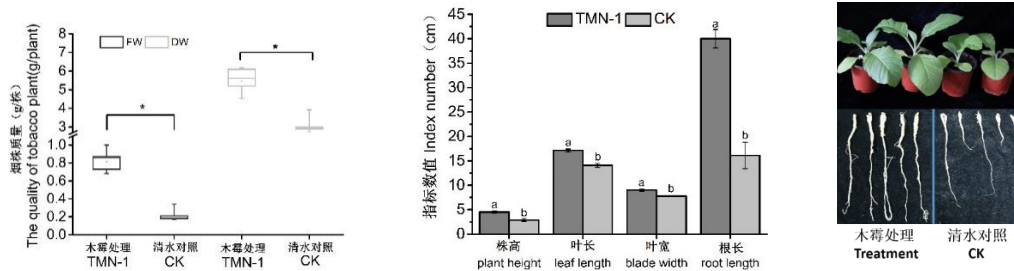


图 6 盆栽条件下菌株对烟草生物学性状的影响

由图 6 可以看出，烟株根部灌根使用菌株 TMN-1 孢子悬浮液后，能显著地促进烤烟平均株高、有效叶数、最大叶长、最大叶宽的增长，1 个月后，处理组各项农艺性状比对照组高 1.57、1.22、1.16、2.48 倍；地上部鲜重、地上部干重、地下部鲜重、地下部干重处理组比对照组高 1.79、2.17、3.73、2.94 倍。

(朱洪江 供稿)

理论支撑

植物根际有益细菌定殖模式探究

在我们现有的以植物为中心的亚型学中，植物根际细菌中既包括促进植物生长的有益细菌，又包括抑制植物生长的有害细菌及无相关作用的中性细菌，其中根际有益细菌与病原菌发挥的竞争作用是通过营养物质的竞争，物理位点，生态位点竞争及氧气的竞争作用来抢占适合其生长和繁殖的生态位点来降低和阻止病原菌生态位点在有利位点的建立。大量研究报道表明有益菌通过在根际的定殖是其发挥竞争作用机制的第一步，因此探究有益细菌在植物根际环境中的定殖过程模型至关重要。

外源有益细菌在引入到土壤中，首先是面临十分复杂的土壤及根际环境并能够适应生存下来，其次是部分有益细菌向植物根际中进行移动。有益细菌移动到寄主植物根际环境中由内部和外部因素诱导。内因是微生物自身的营养需求，尤其对于在寄主植物根际进行定殖的有益细菌，营养条件是主要的调节因子，影响着有益细菌在根际环境中的种群活动和变化趋势；外因就是寄主植物通过分泌化学物质诱导有益细菌的根部富集。其次有益细菌在寄主根

际周围进行富集后进而游动到适宜的根表附近,开始通过一系列的机制在某一适应位点进行吸附定殖进行正常的生理活动。微生物在植物根部表面的吸附依赖于植物识别子和微生物识别子之间分子互补的特异性联接,同时植物也会通过分泌黏性物质有利于微生物的黏附。随后,有益细菌在依附在根表不同部位之后,在适宜的条件下在植物根表部位从单一的微生物增殖形成生物群菌落且为不均匀分布,对于根际内生菌能够通过皮孔等自然孔口进入到植物根内进行定殖,也可以通过自身产生一些纤维素水解酶类破坏根表进行侵入到根内部。最后,有益菌迁移到某一部位进行增殖形成微生物膜来占领生态位点发挥竞争作用。

总的来说,土壤中土著有益菌和外源添加的有益菌在土壤中部分是可以向寄主植物根际环境进行迁移和定殖的,其定殖部位主要是在植物根部自然孔口,伤口、根尖处、根芽部等,并且在根部定殖也是不均匀分布的。生防菌株其生防效果与其定殖能力紧密相关的。研究根际有益细菌定殖过程模型能够更清楚的了解在土壤环境中,微生物是如何与植物进行互作的一个过程。把握根际有益菌与寄主作物的互作过程能够更好的提高生防菌剂在田间应用时稳定性和生防效果。

参考文献

- [1] Raaijmakers J M, Paulitz T C, Steinberg C, et al. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms[J]. *Plant and Soil*, 2009, 321(1-2): 341-361.
- [2] Klopper J W, Leong J, Teintze M, et al. Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Nature*, 1980, 286(5776): 885-886.
- [3] BOWEN G D, ROVIRA A D. The rhizosphere: the hidden half of the hidden half [A]. In: Waisel Y, Eshel A, Kafkafi U. *Root: The hidden half*[C]. New York: Marcel Dekker Inc., USA, 1992: 641-649.
- [4] Zhelnina K, Louie K B, Hao Z, et al. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly[J]. *Nature Microbiology*, 2018.
- [5] A.V. Shelud'ko, Shirokov A A, Sokolova M K, et al. Wheat root colonization by *Azospirillum brasilense* strains with different motility[J]. *Microbiology*, 2010, 79(5): 688-695.
- [6] Ren X L, Zhang N, Cao M H, et al. Biological control of tobacco black shank and colonization of tobacco roots by *Paenibacillus polymyxa* strain C5[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2012, 48: 613-620.
- [7] 枯草芽孢杆菌对烟草根际细菌多样性的影响[C]// 中国植物保护学会学术年会. 2015.
- [8] 王颖, 杨成德, 薛莉, 等. 生防菌株 ZA1 的 GFP 基因标记及其功能稳定性测定[J]. *植物保护学报*, 2017(04): 131-137.

(孙成成 供稿)