

根茎病害研究通讯

Communications in Root and Stem Diseases Research

(2017 年第 3 期, 总第 49 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 3 月 31 日

工作动态

重大专项开局之年 丁伟教授赴各地调研对接

2017 年 3 月 7 日-3 月 11 日, 根据国家局绿色生态防控重大专项子课题《植烟土壤微生物特征及影响青枯病/黑胫病发生的主导因子研究》的要求, 丁伟教授带领项目组成员硕士研究生张淑婷、李四光、江其朋赴彭水、黔江、武隆调研并采取越冬后根茎病害土壤样品。

3 月 12 日, 丁伟教授在涪陵县焦石镇政府烟办卢主任的陪同下, 携西南大学天然产物农药实验室博士生杨亮与本科生赵世元赴渝东南涪陵县焦石镇烟区进行了示范区地点的选择和越冬土壤样品的采集。

3 月 13-14 日, 围绕中国烟草国家专卖局开展的烟草绿色生态防控重大战略专项, 四川省烟草公司专卖局立项的《四川烟草根茎病害发生机制及绿色防控技术研究》囊括了凉山州、攀枝花、广元、泸州以及宜宾这五大烟区。丁伟教授携课题组成员陈娟妮老师、研究生黄阔一同前往四川泸州、宜宾两大烟区落实对接项目并开展实地调研工作。四川省烟草公司烟草科学研究所、泸州市公司、宜宾市公司相关领导一同前往。

3 月 19 日丁伟教授与烟科所杨超部长、王红锋部长在湖南中烟陈树伟主任和巫山烟叶科科长赵俊杰的陪同下也赶赴巫山骡坪镇进行调研, 一同查看了烟蚜茧蜂的保育情况, 随后丁教授安排了今年巫山试验的开展情况, 要求合理规划试验用地, 规范基地试验的开展, 并要求严格按照项目要求做好巫山基地单元的示范工作。

3 月 20 日, 项目组首席专家丁伟教授、重庆烟草科学研究所杨超部长、王红峰部长与研究生姚晓远一行抵达河南省南阳, 与南阳烟草公司技术中心主任程玉渊、河南科技大学侯文邦教授以及北京十方科技有限公司文明经理进行示范区建设的对接工作。

3 月 21-22 日, 为进一步落实项目《四川烟草根茎病害发生机制及绿色防控技术研究》工作, 西南大学丁伟教授携研究生武霖通、朱洪江赴凉山西昌、攀枝花与相关领导及工作人员落实本项目以及驻点人员前期工作。



(姚晓远 整理)

项目组成员参加 2017 年重庆市在研项目实施方案论证会

3 月 17 日，重庆市烟草科学研究所组织召开了 2017 年在研项目实施方案的论证会。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副处长李常军，彭水烟草分公司副经理代先强，丰都烟草分公司副经理马啸，西南大学柴友荣教授等领导专家参加了会议并组成评审小组，西南大学丁伟教授烟草研究团队参加此次会议并进行了汇报。

3 月 17 日上午，会议在北碚海旭酒店二楼会议室召开。首先徐宸副所长就项目汇报的内容以及相关评审办法进行介绍，希望通过这次会议的召开与讨论，提高实施年度方案的落实效率，保证项目能够顺利完成预期任务目标。此次会议共有 8 个项目参加了方案的论证，分别涉及到烟草品种选育、微生物技术、微生态与绿色防控技术研究等方面。其中丁伟教授烟草植保研究团队所承担的“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”与“基于拮抗菌剂的青枯病黑胥病绿色防控技术研究与应用”项目参与了汇报与讨论。首先项目组成员李石力博士就“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”进行了详细的汇报，指出“该项目通过 2016 年的研究，取得了许多研究成果，明确了重庆地区植烟地区连作土壤的基本微生态特征，形成了多项控制青枯病的关键技术，并发表论文 5 篇，圆满完成了 2016 年的任务目标”，在此基础上，项目组按照 2017 年的合同任务，继续针对土壤微生态特征的描述以及青枯病发生的关键微生态机制问题进行研究。

此外丁伟教授汇报了绿色生态防控重大专项“基于拮抗菌剂的青枯病黑胥病绿色防控技术研究与应用”2017 年的实施方案，从室内基础研究到物化产品的研发，最后集成示范，详细的展示了 2017 年开展的内容。针对项目的汇报内容，评审专家也提出了相应的问题，提出要重点围绕技术的集成与实施，形成相应的规程与规范，有效落实。

2017 年丁伟教授烟草植保研究团队承担的两个项目一方面解释青枯病发生的微生态机制，一方面集成技术、物化产品进行示范推广，且这两个项目为国家局重点项目与重大专项，通过项目的实施，将为烟草根茎病害的控制提供一系列的微生态理论与技术。



（李石力 供稿）

伞形花内酯对青枯菌 III 型分泌系统的调控作用

青枯菌 III 型分泌系统 (T3SS) 是青枯菌的决定性致病性因子, 在病原菌与寄主识别及互作过程中起着非常重要的作用。青枯菌 T3SS 由 hrp (hypersensitive response and pathogenicity) 基因簇编码, 该基因簇位于青枯菌的大质粒 (mega plasmid) 上, 大小约 23kb, 由 7 个转录单元组成。Hrp 基因簇包含 20 多个基因, 其编码的 20 多个蛋白组装成注射器状的 T3SS, 如 HrpY、HrpX 和 HrpV 负责 T3SS 分泌通道的组装。青枯菌通过注射器状的 T3SS, 向寄主植物分泌效应蛋白, 抑制植物的防卫免疫反应, 利于青枯菌侵染寄主植物。近期研究发现细菌 T3SS 表达受细菌生长阶段、营养水平、细胞浓度、温度和 PH 值等环境条件调控, 同时植物源化合物也能够调控 T3SS 表达, 如酚类物质及其衍生物通过抑制梨火疫病菌 T3SS 表达, 抑制其在寄主植物上的致病力。植物源化合物具有来源广、对环境安全等优点, 那么我们猜想植物源化合物中存在青枯菌 T3SS 抑制剂, 通过降低青枯菌的致病因子, 达到防控青枯病发生的效果。

为了探究香豆素类化合物对青枯菌 III 型分泌系统的调控作用, **西南大学植物青枯病研究团队**构建青枯菌 *RipX-lacZYA* 报告菌株, 评价了 17 种香豆素类化合物对青枯菌效应基因 *RipX* 表达的影响, 筛选出 T3SS 效果最好的一种抑制剂-伞形花内酯。通过 RT-PCR 检测伞形花内酯对青枯菌 III 型分泌系统调节子和效应因子转录水平的影响, 发现伞形花内酯对青枯菌 *RipX* 的抑制效果具有剂量效应关系 (图 1), 同时该化合物对青枯菌 III 型分泌系统主要通过 HrpG-HrpB 和 PrhG-HrpB 途径调控 (图 2), 而不影响 III 型分泌系统通路其它基因的表达, 表明伞形花内酯对青枯菌 III 型分泌系统的调控途径具有特异性。同时伞形花内酯显著降低了 6 个效应基因的表达 (*RipX*, *RipD*, *RipP1*, *RipR*, *RipTAL* and *RipW*), 而不影响 T2SS 相关基因的表达。另外, 伞形花内酯显著抑制青枯菌的生物膜, 而不影响运动性。最后, 伞形花内酯延缓了烟草青枯病的发生 (图 3), 通过抑制青枯菌的致病因子, 显著降低了青枯菌在烟草中的致病力。这也为 T3SS 调控机理研究和筛选 T3SS 有抑制作用的化合物提供了理论依据。

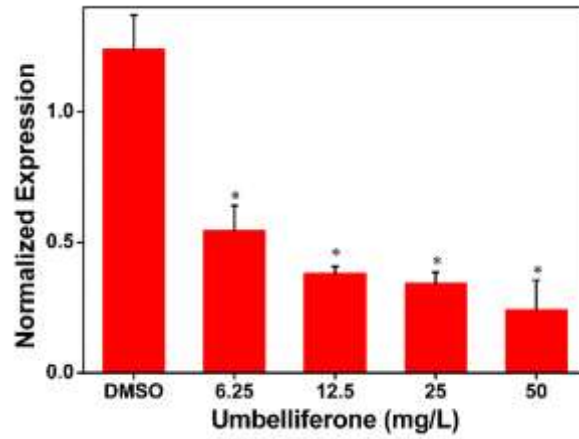


图 1 伞形花内酯对青枯菌效应基因 *RipX* 表达的影响

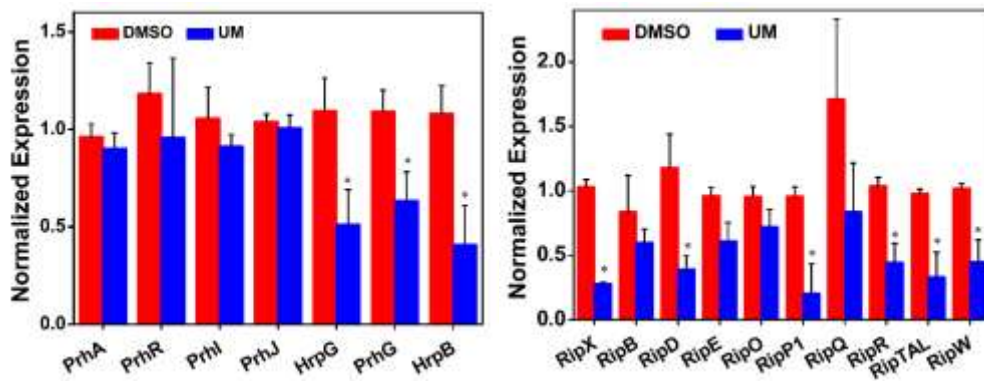


图 2 伞形花内酯对青枯菌三型分泌系统调控途径及效应基因的影响

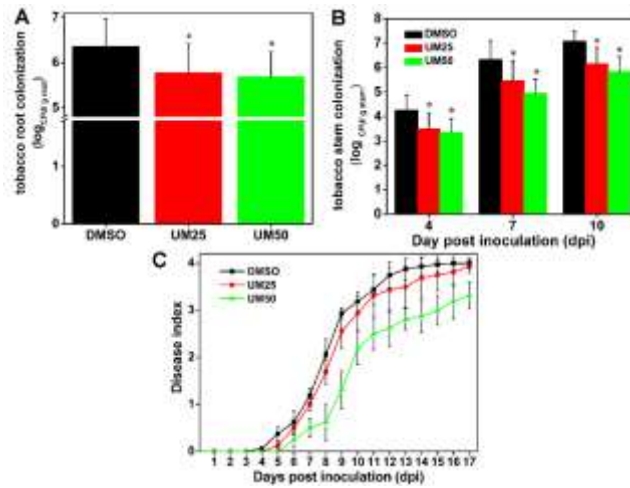


图 3 伞形花内酯对烟草青枯病发生的影响

(杨亮 供稿)

香豆素类化合物的生物效应

香豆素类化合物（Coumarins）是指一类具有苯骈 α -吡喃酮母核的天然活性化合物，化学名称为 2H-1-benzopyran-2-one，主要分布在伞形科、豆科、菊科、茄科、瑞香科等植物中，在动物及微生物代谢产物中也有发现。根据化合物环上取代基及其位置的不同，通常将香豆素类化合物分为简单香豆素、呋喃香豆素、吡喃香豆素和其他香豆素等。

香豆素类化合物特殊的分子结构，能够促使生物体产生活性氧，继而使细胞内氧化压力增大，很可能损伤 DNA、蛋白质和细胞膜，构成细胞内损伤。另一方面，香豆素类化合物在自然环境中，维持植物-微生物-土壤-病原菌生态系统平衡，在促进土壤矿物质元素转化、影响植物生长、抑制病原菌生长、改善土壤微生态环境等方面发挥着重要作用。

香豆素类化合物对植物的影响

Niro 等研究发现香豆素在 100 mg/L 浓度下能显著地抑制野生燕麦幼苗生长，而对小麦幼苗生长无明显影响。Li 等人试验结果表明在相同浓度下，香豆素对生菜幼苗生长抑制效果明显。Kupidlowska 等人研究表明，0.46 mM 花椒毒酚抑制黄瓜和玉米幼苗生长，但是却对豌豆幼苗生长无明显影响，采用显微镜观察植物组织细胞超微结构发现花椒毒酚主要通过刺激内质网破损和减少高尔基体数量，降低植物活性，从而抑制植物的生长。不同的香豆素类化合物对同一种植物的生物效应亦是不同的，有研究发现香豆素、伞形花内酯对生菜、狗尾草等植物幼苗生长具有显著的抑制效果，但其他香豆素化合物如 4,7-二羟基香豆素、4-甲基-7-羟基香豆素、4-甲基-6,7-二羟基香豆素能够促进生菜幼苗生长，而 4,7-二羟基香豆素、4-甲基-7-羟基香豆素对狗尾草几乎没有任何生物效应。

香豆素类化合物对植物害虫的作用

随着科学技术的发展，通过高通量筛选具有特定生物活性的植物源化合物发展迅速，在研究学者探索植物源杀螨剂的过程中，发现了香豆素类化合物具有有效的杀螨活性，具有巨大的应用前景。本课题组研究发现，简单香豆素类化合物东莨菪内酯对朱砂叶螨具有触杀、内吸、驱避和产卵抑制等多方面活性，并对螨体内的多种酶活产生显著影响。通过转录组高通量测序和基因功能验证，东莨菪内酯对朱砂叶螨的杀螨活性可能与 Ca^{2+} -ATP 酶有关。

豆素类化合物对微生物的调控作用

Niro 等人通过室内模拟田间环境，发现香豆素作为一种天然的除草剂，在 100-150 mg/kg 干土浓度下效果最为显著。通过土壤微生物生物量和活性研究，发现香豆素 100-300 mg/kg 干土处理均减少了细菌的多样性，同时土壤真菌的多样性亦被显著降低，但在土壤+植物环境中，高浓度香豆素处理（200 mg/kg 土、300 mg/kg 土）显著诱导了真菌多样性，土壤微生物的辛普森多样性指数也显著增加。有研究学者发现化感物质的土壤微生物活性可能与物质本身的流动活性有关，Li 等人研究发现香豆素、香兰素在土壤中的流动性活性最强，Rf

值大于 0.5，同时显著降低了土壤微生物多样性。

香豆素类化合物的抑菌活性研究

羟基香豆素类化合物会在病原真菌、细菌和病毒侵染部位迅速聚集，这种现象通常发生在植物的叶部和茎部，在阳光紫外线的照射，通过激发态质子转移反应抑制病原真菌或细菌。本课题组通过前期研究发现，羟基香豆素类化合物对青枯菌（*Ralstonia solanacearum*）表现出极强的抑菌活性，其中瑞香素（7,8-二羟基香豆素）、秦皮乙素（6,7-二羟基香豆素）、伞形花内酯（7-羟基香豆素）对青枯菌的 EC₅₀ 分别为 8.73 mg/L、24.75 mg/L、37.15 mg/L，显著高于对照药剂噻菌铜（Thiodiazole Copper）。其次，还有研究发现香豆素也具有明显的抑制青枯菌生长的活性，盆栽实验中表现出有效控制青枯病的效果，防效维持在 40% 以上。

（杨亮 供稿）

最新主要参考文献

1. Mori Y, Ishikawa S, Ohnishi H, Shimatani M, Morikawa Y, Hayashi K, Kiba A, Kai K, Hikichi Y. Involvement of ralfuranones in the quorum sensing signalling pathway and virulence of *Ralstonia solanacearum* strain OE1-1[J]. Molecular plant pathology, 2017.
2. Salcedo S S, Santiago T R, Colman A A, Barreto R W. First Report of Bacterial Wilt of Chickpea Caused by *Ralstonia pseudosolanacearum* in Brazil[J]. Plant Disease, 2017.
3. Puigvert M, Guarischi-Sousa R, Zuluaga P, Coll N S, Macho A P, Setubal J C, Valls M. Transcriptomes of *Ralstonia solanacearum* during Root Colonization of *Solanum commersonii*[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8.
4. Mazzola M, Freilich S. Prospects for biological soil-borne disease control: application of indigenous versus synthetic microbiomes[J]. Phytopathology, 2016 (ja).
5. Körner U A, Kroll U, Hilgert S. False positive *Ralstonia solanacearum* real - time PCR results in routine potato tuber samples caused by *Advenella* species: adaptations to avoid these cross - reactions[J]. EPPO Bulletin, 2017, 47(1): 33-40.
6. Yang T, Wei Z, Friman V P, Xu Y, Shen Q. Resource availability modulates biodiversity-invasion relationships by altering competitive interactions[J]. Environmental Microbiology, 2017.
7. Rigault M, Buellet A, Masclaux-Daubresse C, Fagard M, Chardon F, Dellagi A. Quantitative methods to assess differential susceptibility of *Arabidopsis thaliana* natural accessions to *Dickeya dadantii*[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8.
8. Sugiyama L S, Bushe B C, Heller W P, Keith L M. First Report of *Paraburkholderia*

- andropogonis Causing Bacterial Leaf Streak of *Strelitzia reginae* in Hawaii Detected From Imported Plants[J]. *Plant Disease*, 2017.
9. Langemeier C B, Robertson A E, Wang D, Jackson-Ziems T A, Kruger G R. Factors Affecting the Development and Severity of Goss's Bacterial Wilt and Leaf Blight of Corn, Caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis*[J]. *Plant Disease*, 2017, 101(1): 54-61.
 10. Wang R, Zhang H, Sun L, Qi G, Chen S, Zhao X. Microbial community composition is related to soil biological and chemical properties and bacterial wilt outbreak[J]. *Scientific Reports* (Nature Publisher Group), 2017, 7: 1.
 11. Fu L, Penton C R, Ruan Y, Shen, Z., Xue C, Li R, Shen Q. Inducing the rhizosphere microbiome by biofertilizer application to suppress banana *Fusarium* wilt disease[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 104: 39-48.
 12. Li T, Liu T, Zheng C, Yang Z, Yao X, Song F, Zhang R, Wang X, Xu N, Zhang C, Li W, Li S. Changes in soil bacterial community structure as a result of incorporation of Brassica plants compared with continuous planting eggplant and chemical disinfection in greenhouses[J]. *PloS one*, 2017, 12(3): e0173923.
 13. Yao Q, Liu J, Yu Z, Li Y, Jin J, Liu X, Wang G. Three years of biochar amendment alters soil physiochemical properties and fungal community composition in a black soil of northeast China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 110: 56-67.
 14. Yan Z, Yin M, Xu D, Zhu Y, Li X. Structural insights into the secretin translocation channel in the type II secretion system[J]. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2017.
 15. Hu Y, Huang H, Cheng X, Shu X, White A P, Stavriniades J, Koster W, Zhu G, Zhao Y, Wang, Y. A global survey of bacterial type III secretion systems and their effectors[J]. *Environmental Microbiology*, 2017.
 16. Schmidt J, Fester T, Schulz E, Michalzik B, Buscot F, Gutknecht J. Effects of plant-symbiotic relationships on the living soil microbial community and microbial necromass in a long-term agro-ecosystem[J]. *Science of The Total Environment*, 2017.

（姚晓远 供稿）