根茎病害研究通讯

Communications in Plant Root and Stem Diseases Research

（2017 年第 6 期，总第 52 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 6 月 31 日

工作动态

全国烟草根茎病害根际微生态特征调研与取样
——广西、皖南行

为了进一步了解青枯病在我国各植烟地区的发生情况，分析不同地理环境区域下烟草青枯病发生特点，以及不同烟区青枯病发病烟株与健康烟株的根际微生态特征。在中国烟草总公司重大专项根茎病害绿色生态防控项目的大力支持下，2017 年首席科学家丁伟教授课题组对全国青枯病发病区域进行全面的样品采集工作。继上月的江西、福建、广东、湖南之后，本月主要前往广西和皖南两地区进行采样。

6 月 13 日-6 月 19 日，研究室博士研究生李石力，硕士研究生李四光前往广西百色、贺州、河池等主要烟叶产区，开展了为期 7 天的烟草青枯病菌株与根际土壤样品的采集工作。共采集土壤样品 48 个，烟株样品 16 个，采集点包括百色市靖西县新靖乡、百色市靖西县同德乡、百色市靖西县化佪镇、百色市隆林县德峨镇、贺州市钟山县红花镇、贺州市富川县新华乡、河池市南丹县刘寨镇。

6 月 28 日-6 月 30 日，研究室博士研究生杨亮，硕士研究生李四光前往皖南地区-安徽宣城、芜湖等主要烟叶产区，进行了烟草青枯病菌株与根际土壤样品的采集工作。共采集土壤样品 45 个，烟株样品 8 个，采集点包括芜湖市南陵县溪滩镇、宣城市宣州区文昌镇施田村、宣城市宣州区黄渡乡伏村村。

在样品采集过程中，项目组成员们详细记录了各区域的种植方式、地理环境特征、以及栽培习惯等，并发现了不同地区内的青枯病的发病程度存在明显差异，青枯病的发生与土壤环境、区域气候条件、种植习惯、植株根系发达程度等因素显著相关。采样工作得到了当地烟草公司、烟草研究所等单位的大力支持。

项目组连续多年对全国青枯病发病产区进行系统采样，旨在构建全国最大最全的烟草青

枯菌菌株库与土壤微生态基本特征数据库，明确青枯病菌在我国的遗传分化与地理环境因子的关系，以及青枯病发生下发病与不发病烟株的土壤微生态特征，最终解释我国青枯病发生逐年严重的内在机制，阐释青枯病发生与地理环境因子、土壤微生态因子等的关系。2017年的采样工作仍在进行中，项目组将继续跟踪报道。

图 1 项目组成员采集土壤样品

图 2 青枯病严重发生

图 3 发病田块中唯一的健康烟株

图 4 烟草青枯病发病叶片的网格状症状

（刘颖 整理）

各生态区烟草绿色防控重大专项工作推进会顺利召开

根据《国家烟草专卖局关于启动实施烟草绿色防控重大专项的通知》和《国家烟草专卖局关于印发烟草绿色防控重大专项实施工作方案和技术方案的通知》要求，为切实推进烟草病虫绿色防控重大专项的顺利实施，各生态区陆续开展烟草绿色防控重大专项工作推进会，项目组丁伟教授作为根茎病害绿色防控的首席专家出席了会议。

5 月 18 日，武陵秦巴生态区烟草绿色防控重大专项工作推进会在湖北武汉顺利召开。武陵秦巴生态区主要包括湖北省、陕西省和重庆市三个省市，通过本次会议，初步形成了“武陵秦巴生态区烟草绿色防控重大专项”工作方案和技术方案，成立了工作领导小组和技术领导小组，建立了生态区绿色防控工作、交流平台，为后期武陵秦巴绿色防控工作的全面推进奠定了扎实的基础。

5 月 19 日，南岭丘陵生态区烟草绿色防控重大专项工作推进会在湖南长沙顺利召开。南岭丘陵生态区主要包括江西、广东、安徽、湖南四个省份，本次会议对行业绿色防控重大专项推进工作进行了总体部署，对技术方案进行了详细解读，为构建南岭丘陵生态区绿色防

控特色模式，实现烟叶生产安全、烟叶质量安全及烟区生态安全奠定了基础。

6 月 6 日，黔桂山地生态区烟草绿色防控重大专项工作推进会在贵州贵阳顺利召开。黔桂山地生态区包括贵州和广西两省，本次会议成立了工作领导小组和技术领导小组，建立了生态区工作机制，搭建交流平台等，为黔桂山地生态区烟草绿色防控重大专项奠定了夯实的基础。

6 月 7 日，西南高原生态区烟草绿色防控重大专项工作推进会在云南昆明顺利召开。西南高原生态区包括云南、四川两省，本次会议对行业绿色防控重大专项推进工作进行了总体部署，对技术方案进行了详细解读，对西南高原生态区烟草绿色防控重大专项工作总体方案进行了介绍说明。滇川两省将全面加强合作交流，强化技术协同创新，努力把西南高原生态区打造成为行业绿色防控创新的先行者、排头兵。

6 月 9 日，东北平原生态区烟草绿色防控重大专项工作推进会在哈尔滨顺利召开。东北平原生态区包括黑龙江、吉林、辽宁三省，本次会议就该生态区烟草绿色防控重大专项工作进行了统筹协调、研究部署。

图 5 烟草绿色防控重大专项工作推进会（左：武陵秦巴生态区，右：黔桂山地生态区）

（刘颖 整理）

日行千里，丁伟教授一行到四川泸州、宜宾、攀枝花、凉山等主要烟区调研

在国家局的倡导下，烟草绿色防控重大专项在全国各大烟区大力推进，其中四川烟区作为西南高原生态区，生态条件得天独厚，烟叶品质特色彰显。为了充分了解四川烟区面临的主要问题-青枯病/黑胫病发生、爆发，烟草绿色防控重大专项首席专家丁伟教授，携西南大学张永强副教授、陈娟妮讲师、杨亮博士、刘志勇研究生等一行人于 6 月 14 日-16 日，赶赴四川泸州、宜宾、攀枝花、凉山等主要烟区，对基地单元的示范区建设情况开展了调研工作。

6 月 14 日，丁伟教授一行人到达四川泸州，在泸州烟草公司古蔺县双沙烟站刘蔺江站长、蔡猛副站长的陪同下，察看了泸州双沙基地单元示范区。听取了项目组成员黄阔的汇报后，表示示范区建设取得了一定的成效，但也存在不足之处，要求研究人员进一步加强示范

区建设，并建议在采收烟叶后种植油菜绿肥，活化土壤。随后，丁伟教授一行人赶赴宜宾兴文基地单元，在了解示范区烟草青枯病严重发生后，针对宜宾特殊的发病特点和土壤类型，采集了烟草青枯病发病的根际土壤和病株。

6 月 15 日，丁伟教授等人日行千里，下午 6 点左右，赶到攀枝花平地基地察看了示范区情况，在项目组成员武霖通的介绍下，了解到攀枝花平地基地单元旱情比较严重，同时烟草黑胫病发生严重。项目组通过小区试验发现，移栽期或者发病初期对烤烟进行精准施药，可有效地控制烟草黑胫病的发生，而团棵期或发病以后进行灌药处理，反而加快了黑胫病的发生，这有利于指导攀枝花烟区黑胫病防治科学、精准用药。

6 月 16 日上午，丁伟教授在西昌参加了凉山州烟草公司举行的烟叶生产技术培训，随后，在凉山州烟草公司冯长春副经理、冕宁县分公司邓明飞经理的陪同下，到冕宁县回龙基地进行了考察。在听取项目组成员朱洪江的简短汇报后，丁伟教授针对四川烟草绿色防控示范提出了几点建议：示范区建设必须围绕“四个平衡”指导思想，充分凸显特色，将指导思想结合生产实践，进一步加强和完善绿色防控方法改良，建立适用于整个地区的绿色防控技术体系。

项目组专家丁伟教授在 3 天时间内，行驶距离至少 2200 公里，赶赴了四川泸州、宜宾、攀枝花、凉山等 4 个基地，日行千里，这已然成为丁伟教授的工作常态，为何那般奔波，只因心系那片土地。

图 6 丁伟教授在基地调研

图 7 四川烟区烟草绿色防控示范区烤烟长势

（杨亮 供稿）

研究进展

咖啡酸抑制青枯菌生物膜的形成

咖啡酸和对香豆酸是植物分泌的具有抗菌性的酚酸类化合物，前期通过带药平板已验证 200 μg ml^{-1} 咖啡酸和 160 μg ml^{-1} 对香豆酸可以在培养 48 h 后完全抑制青枯菌的生长，证明咖啡酸和对香豆酸可以抑制青枯菌的生长。青枯菌生物膜是自然环境中生存的细菌在多聚糖、

蛋白质或等胞外基质的粘附下结合于固体、液体介质表面或与其他微生物紧密接触而形成的多细胞聚集体，生物膜的存在有助于细菌抵御不良的外界环境以及有害物质的侵蚀，维持其生存环境的相对稳定。

通过传统的结晶紫染色法测定了化合物处理后青枯菌生物膜的形成情况，发现咖啡酸能够抑制青枯菌生物膜的形成，随着药剂浓度的升高，抑制作用越显著，200 μg ml^{-1} 浓度下抑制率达到 18.62%。对香豆酸在低浓度刺激了生物膜的形成，在高浓度下对青枯菌生物膜形成有一定的抑制作用，在 160 μg ml^{-1} 浓度抑制率仅为 7.93%。综上所述，咖啡酸可能通过影响青枯菌生物膜的形成，进而影响青枯菌的生长，而对香豆酸在 MIC 浓度下才对青枯菌有一定的抑制作用，其作用机理还有待进一步探究。

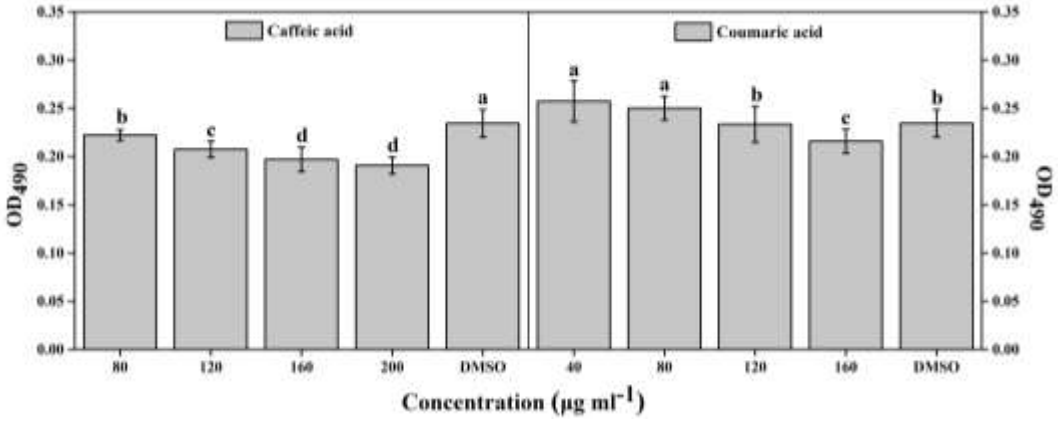

图 8 不同浓度咖啡酸和对香豆酸对青枯菌生物膜形成的影响（左：咖啡酸；右：对香豆酸）

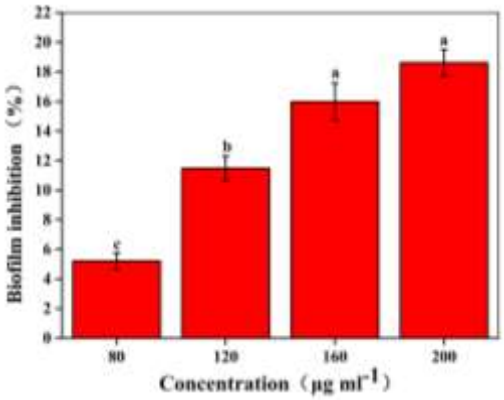

图 9 不同浓度咖啡酸对青枯菌生物膜形成的抑制作用

（王姣 供稿）

成果展示

研究团队在茄科青枯病研究领域取得了系列新进展

西南大学植物青枯病研究团队围绕青枯菌发生机理与青枯病的防治技术的相关研究不

断取得新的研究进展，土传青枯病菌在我国发生逐渐严重与难以控制的科学问题不断被阐释，新型的防治技术与手段也不断被研制出来。在丁伟教授的指导下，近期团队又有 3 篇论文先后发表于 ***Frontiers In Microbiology***。

1、Soil Acidification Aggravates the Occurrence of Bacterial Wilt in South China

发表期刊：*Frontiers In Microbiology* （IF=4.076）

该论文首次报道了土壤酸化与青枯病发生的关系；证明了土壤酸化范围在 4.5-5.5 时，容易导致青枯病的发生，且从植物与细菌互作角度看，pH 低于 5.5 时有利于病原菌的致病力而降低植物的抗病性，从大田试验也证明了通过改良土壤酸碱度能够显著的降低青枯病的发生。本论文为青枯病的防治提供了酸碱度理论，也提出调酸在控制青枯病中的重要性。

2、Genome Sequencing of *Ralstonia solanacearum* CQPS-1, a Phylotype I Strain Collected from a Highland Area with Continuous Cropping of Tobacco

发表期刊：*Frontiers In Microbiology* （IF=4.076）

该论文首次分析报道了重庆地区烟草植株内分离的青枯菌全基因组信息。重点分析并明确了高海拔烟区青枯病菌的基因分子特性，为下步阐释青枯病菌在我国向高海拔、高纬度迁移奠定了基础。

3、Exposure to Umbelliferone reduces *Ralstonia solanacearum* biofilm formation, transcription of Type III secretion system regulators and effectors and virulence on tobacco

发表期刊：*Frontiers In Microbiology* （IF=4.076）

自然界中存在大量的天然活性产物，能够有效的控制有害生物，其中香豆素化合物是一类具有广泛活性的植物源化合物。该论文从生物膜的抑制活性，到青枯菌三型分泌系统相关通路的抑制，系统的阐释了香豆素化合物中的伞形花内酯对青枯菌的抑制机理，该研究也为后期青枯病防治药剂的筛选提供了基础。

（李石力 供稿）

知识窗

青枯雷尔氏菌在寄主植物细胞间隙定殖方面的调控机制

土传病原细菌青枯雷尔氏菌入侵植物根部时首先定植于根的细胞间隙，并最终进入木质部导管，在那里进行大量复制并导致寄主萎蔫症状。侵入细胞间隙后，青枯雷尔氏菌菌株附着于宿主细胞并表达编码 III 型分泌系统（T3SS）的 hrp 基因，构建 T3SS 并分泌效应子到宿主细胞中，以此来抑制植物自身的免疫。然后，菌株在宿主中生长，诱导群体感应（quorum sensing，QS）。QS 有助于调节 OE1-1 在寄主细胞间隙的定殖，包括宿主细胞上的蘑菇型生物膜形成，致使菌株产生毒力。

青枯雷尔氏菌菌株 AW1 和 K60 生成 3-羟基棕榈酸甲酯（3-OH PAME）作为 QS 信号。而菌株 OE1-1 和 GMI1000 则产生 3-羟基肉豆蔻酸甲酯（3-OH MAME）作为 QS 信号。在青枯雷尔氏菌中，推导的 PhcB 和 PhcS 氨基酸序列与 QS 信号的产生有关。QS 信号是由甲基转移酶 PhcB 合成的。当 3-OH PAME 达到阈值时，组氨酸激酶 PhcS 的能力也随之增加，使调节子 PhcR 磷酸化。PhcR 的磷酸化被认为降低了其与 PhcA 结合的活性，导致功能性全局毒力调节子 PhcA 水平升高。因此，高密度（> 10^6 cfu/ml）的青枯雷尔氏菌细胞有大量的功能性 PhcA，并产生多种毒力因子如 EPS I，同时抑制存活和侵染因子如 T3SS 和泳动的产生。有趣的是，功能性 PhcA 抑制 prhIR 操纵子的表达，导致 hrp 基因的表达受到抑制（图 10A）。此外，功能性 PhcA 能通过群体感应胞内/胞外信号（phc QS）诱导 lecM 参与调控蘑菇型生物膜的形成，表明菌株 OE1-1 通过 phc QS 控制蘑菇型生物膜的形成。

青枯雷尔氏菌依靠 QS 产生芳基-呋喃酮次级代谢物--呋喃酮衍生物（ralfuranones A, B, I, J, K, and L），这些次级代谢物被分泌到胞外并与其毒力密切相关。其中，ralfuranone I 是其他呋喃丹酮衍生物的前体，ralfuranone I 能通过非酶反应转化成 ralfuranone B，来自 ralfuranone B 通过非酶反应消除苯甲醛产生 ralfuranone A，ralfuranone B 也可以通过酶氧化反应产生 ralfuranone J 和 K，ralfuranone L 则由 ralfuranone I 通过酶反应合成（图 10B）。而另一方面通过呋喃酮衍生物调节的转录调控表明其也会影响 QS 的反馈回路。总的来说，以青枯雷尔氏菌菌株 OE1-1 为例，在侵染的早期阶段，3-OH MAME 介导的细胞间信号激活 phc QS，导致呋喃丹酮衍生物的产生和分泌。然后每个呋喃丹酮衍生物联合 phc QS 的反馈回路介导青枯雷尔氏菌菌株细胞间的胞内信号传导。通过结合 phc QS 的呋喃酮衍生物，青枯雷尔氏菌菌株 OE1-1 形成完整的细胞内/细胞间信号传导，调控其在寄主细胞间隙定殖期间精细可控的分子特征，导致其毒力产生（图 2A）。

--the mini review in *Frontiers in Plant Science* by Hikichi Y, et al. (2017)

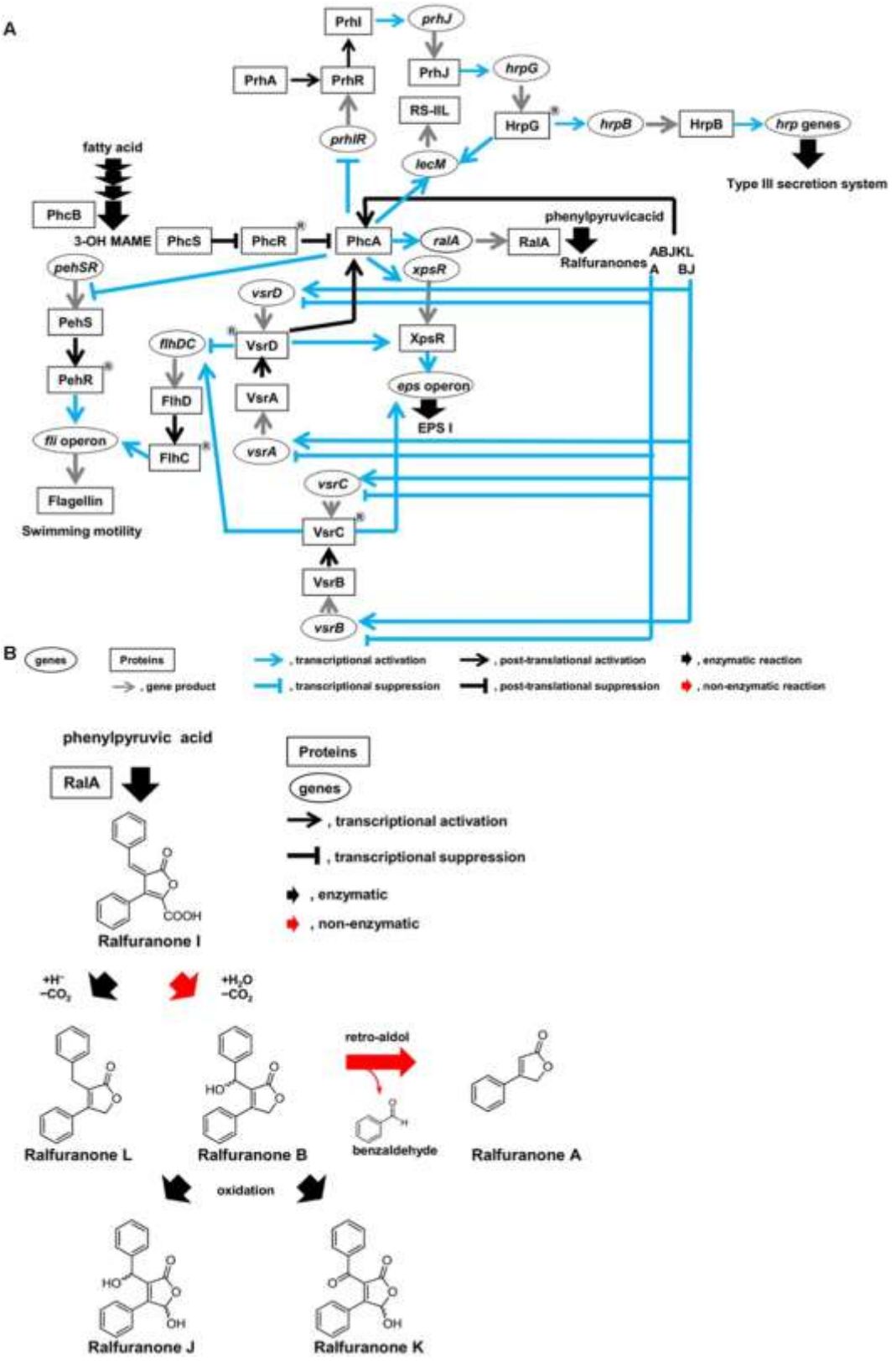

图10 青枯雷尔氏菌菌株OE1-1在群体感应激活的状态下涉及细胞间隙定殖的分子特性回路图（A）及呋喃酮衍生物合成路线示意图（B）

（刘颖 供稿）

最新主要参考文献

1. Hikichi Y, Mori Y, Ishikawa S, et al. Regulation involved in colonization of intercellular spaces of host plants in *Ralstonia solanacearum*[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 967.
2. Li P, Yin W, Yan J, et al. Modulation of inter-kingdom communication by PhcBSR quorum sensing system in *Ralstonia solanacearum* phylotype I strain GMI1000[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1172.
3. Tjou-Tam-Sin N N A, van de Bilt J L J, Westenberg M, et al. First Report of Bacterial Wilt Caused by *Ralstonia solanacearum* in Ornamental Rosa sp[J]. Plant Disease, 2017, 101(2): 378-378.
4. Carstensen G D, Venter S N, Wingfield M J, et al. Two Ralstonia species associated with bacterial wilt of Eucalyptus[J]. Plant Pathology, 2017, 66(3): 393-403.
5. She S, Niu J, Zhang C, et al. Significant relationship between soil bacterial community structure and incidence of bacterial wilt disease under continuous cropping system[J]. Archives of microbiology, 2017, 199(2): 267-275.
6. Chave M, Crozilhac P, Deberdt P, et al. Rhizophagus irregularis MUCL 41833 transitorily reduces tomato bacterial wilt incidence caused by Ralstonia solanacearum under in vitro conditions[J]. Mycorrhiza, 2017: 1-5.
7. Nelson H, Gleason M. Improving Row Cover Systems for Organic Management of Bacterial Wilt in Muskmelon and Squash—Year 1[J]. Farm Progress Reports, 2017, 2016(1): 38.
8. Peng D, Luo K, Jiang H, et al. Combined use of Bacillus subtilis strain B‐001 and bactericide for the control of tomato bacterial wilt[J]. Pest management science, 2017, 73(6): 1253-1257.
9. Aslam M N, Mukhtar T, Ashfaq M, et al. Evaluation of chili germplasm for resistance to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*[J]. Australasian Plant Pathology, 2017: 1-4.
10. Mengesha W K, Powell S M, Evans K J, et al. Diverse microbial communities in non-aerated compost teas suppress bacterial wilt[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2017, 33(3): 49.
11. Aslam M N, Mukhtar T, Hussain M A, et al. Assessment of resistance to bacterial wilt incited by *Ralstonia solanacearum* in tomato germplasm[J]. Journal of Plant Diseases and Protection, 2017: 1-6.
12. Singh K M, Shakywar R C, Kumawat M M, et al. Eco-friendly management of bacterial wilt (Ralstonia solanacearum) of brinjal in Arunachal Pradesh[J]. Indian Journal of Horticulture, 2017, 74(1): 85-90.
13. Yang L, Li S, Qin X, et al. Exposure to Umbelliferone reduces *Ralstonia solanacearum*

biofilm formation, transcription of Type III secretion system regulators and effectors and virulence on tobacco[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1234.

14. 曹毅, 陆宁, 陈兴江, 等. 烟草青枯病病圃土壤细菌组成的高通量测序分析[J]. 河南农业科学, 2017, 46(3): 81-85.
15. 郑雪芳, 朱育菁, 刘波, 等. 番茄青枯病植物疫苗胶悬菌剂的制备及其对病害的防治效果[J]. 植物保护, 2017, 43(2): 208-211.

（刘颖 供稿）