

根茎病害研究通讯

Communications in Plant Root and Stem Diseases Research

(2017 年第 8 期, 总第 54 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 8 月 31 日

工作动态

项目组圆满完成根茎病害绿色生态防控全国植烟区样品采集工作

根据国家局烟草绿色生态防控重大专项关键技术研发相关内容要求,为系统分析全国烟草青枯病的发生情况,找到影响青枯病发生的关键因子,青枯病绿色防控关键技术研究团队在丁伟教授的指导部署下,从 2017 年 5 月份开始,先后完成了福建、江西、广东、湖南、安徽、广西、重庆、陕西等地青枯病烟株以及发病和健康根际土壤的采集,本月项目组完成了云南、贵州、四川和山东的样品采集,自此,全国样品的采集工作圆满完成。

7 月 19 日—8 月 3 日,在丁伟教授带领博士研究生杨亮、硕士研究生唐元满等人前往贵州、云南、四川的主要植烟区调查当地青枯病发生情况,并采集青枯病烟株以及发病烟株根际土壤样品。本次调研分别前往贵州省黔西南布依族苗族自治州兴仁县、安龙县,遵义市绥阳县、正安县,铜仁市德江县、石阡县,黔东南苗族侗族自治州天柱县、镇远县,黔南布依族苗族自治州瓮安县、福泉市、独山县,贵阳市开阳县;云南省曲靖市罗平县,文山壮族苗族自治州麻栗坡、西畴县,大理白族自治州弥渡县,保山市板桥镇、腾冲县、龙陵县,临沧市,普洱市景谷县,玉溪市,昆明市石林县;四川省攀枝花市米易县,凉山彝族自治州德昌县、冕宁县,总里程八千多公里,共采集青枯病病株样品 130 余份,土壤样品 250 余份。

8 月 8 日-8 月 10 日,项目组成员博士研究生刘颖、硕士研究生王姣前往山东潍坊、临沂主要烟叶产区,开展了为期 3 天的烟草青枯病菌株与根际土壤样品的采集工作。分别在潍坊市诸城市皇华镇前寿塔村、临沂市沂水县烟草试验站采集土壤样品 18 个,烟株样品 7 个。

山东烟区的青枯病菌株和根际土壤采集工作的完成,本年度全国主要烟区青枯病发病区的菌株及土壤样品的采集工作已全部完成。本次全国采样共采集烟样 280 余份,土样 340 余份,为构建全国最大的烟草青枯菌菌株库和土壤微生态基本特征数据库奠定了坚实的基础,有利于明确青枯病菌在我国的遗传分化与地理环境因子的关系,以及青枯病发生下的土壤微

生态特征，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。

全国植烟区样品采集工作能够顺利完成，离不开各地烟草公司和烟草研究所、各地烟站工作人员、烟草技术员和烟农的大力支持。截止目前，全国烟草青枯菌的分离工作已经基本完成，正进行后续的深入分析工作；土壤样品已处理完毕，正在进行土壤理化性质的检测分析，土壤微生物 DNA 的提取工作也在进行中。



图 1 项目组成员采集样品



图 2 丁伟教授为烟农讲解烟草病害防治知识

（张淑婷 整理）

各基地单元陆续完成 2017 年度科技项目中期检查

2017 年度，根据国家局烟草绿色防控重大专项子课题根茎病害绿色生态防控以及国家局重点项目《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》项目要求，各基地单元自 7 月底到本月结束，陆续完成了 2017 年项目中期检查。

7 月 25 日，四川省烟草公司科技处处长雷强、泸州市公司徐传涛等一行人对四川泸州双沙基地根茎病害绿色生态防控示范区进行中期检查，项目组成员陈娟妮老师对本项目前期开展的工作、期间遇到的问题以及最后的防治效果向大家进行了详细汇报。

8 月 1 日，7-10 日，四川省烟草公司科技处处长雷强带领专家小组成员分别到达剑门关基地双鱼村示范区和攀枝花基地单元进行科技项目中期检查。项目组成员张永强副教授和攀枝花驻点人员硕士研究生武霖通分别就剑门关绿色生态防控示范地和攀枝花基地单元项目

建设、示范成果、试验成果及技术推广遇到的问题进行现场讲解，得到了一致好评。

8月22日，重庆市烟草公司科技处朱晓伟、重庆烟草科学研究所江厚龙抵达彭水润溪基地单元，对国家局烟草绿色防控重大专项《基于拮抗菌剂的青枯病/黑胫病绿色防控技术研究与应用》以及国家局重点项目《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》所涉及的8个田间小区进行了检查评估，重点检查了两个项目2017年工作的开展情况、实验进展和相关实验结果。截止中期检查彭水润溪国家局绿色防控示范区对根茎病害防控效果显著，示范区内青枯病/黑胫病死烟率控制在5%以下，而对照区死烟率高达20%，保证了烟草的正常采收，促进了烟农增产增收。



图3 专家小组查看烟草长势

研究进展

NtRNF217 调控烟草抗青枯病的生理生化机理

现有大量研究报道了E3泛素连接酶在植物抗生物与非生物胁迫的方面的功能，本实验室前期研究发现接种青枯菌后烟草泛素连接酶基因 *NtRNF217* 显著上调，同时构建过表达植株验证了其具有提高烟草对青枯病抗性的功能，为了探究 *NtRNF217* 调控烟草抗病的原因，我们对感染青枯菌的烟草叶片进行DAB和NBT染色分别检测过氧化氢 (H_2O_2) 和超氧阴离子 ($O_2^{\cdot-}$) 的水平，结果发现 *NtRNF217-OE* 烟草叶片注射青枯菌24h时， H_2O_2 和 $O_2^{\cdot-}$ 的积累显著高于野生型云烟87烟株(图6-7)，这表明 *NtRNF217-OE* 可能通过调节活性氧(ROS)的产生，进而影响植物抗病性。

活性氧迸发对植物细胞坏死反应的发生起重要作用。但大量的活性氧积累会对植物造成伤害，这种伤害包括ROS进一步积累和以SOD为主的抗氧化系统遭到破坏，因此通过抗氧化系统的协调作用使ROS在植物体内维持在较低水平，从而使植物进行正常的生长和发育十分重要。SOD是植物抗氧化系统的第一道防线，在清除ROS方面发挥着重要作用；CAT在细胞中主要存在于过氧化体中，负责清除过氧化体中产生的 H_2O_2 。我们对青枯菌侵染后24h和48h时CAT和SOD的转录水平进行qRT-PCR检测(图8)，结果发现在灌根接菌24h时 *NtRNF217-OE* 烟草 *CAT1* 和 *SOD1* 基因的表达显著上调并高于WT-Yunyan87烟株，对这两种酶的活性进行检测发现，接菌后5天内，*NtRNF217-OE* 烟草CAT和SOD酶的水平

先上升后下降，于接菌后 24 h 达最大值并高于 WT-Yunyan87 烟株，而 WT-Yunyan87 烟株的 CAT 酶活性变化呈波动状态，SOD 酶活性先上升后下降，在接菌后 3 d 达最大值。由此可以推测 *NtRNF217-OE* 烟草在接菌后快速产生活性氧，激活植物的过敏反应，同时为了维持体内活性氧的平衡，过表达植株活性氧清除酶类的活性上升。



图 6 青枯菌侵染烟草叶片 24 h DAB 染色



图 7 青枯菌侵染烟草叶片 24 h NBT 染色

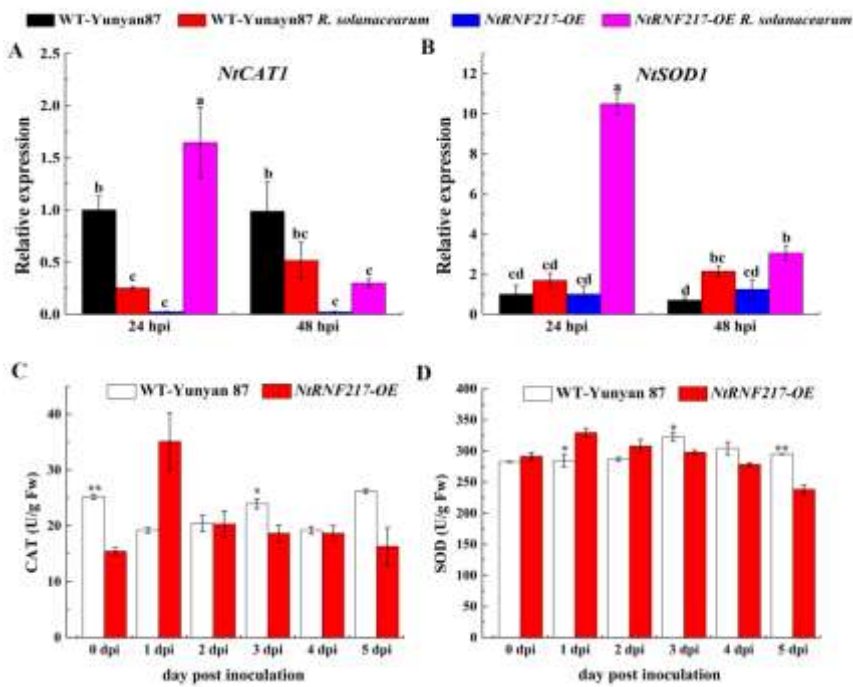


图 8 青枯菌侵染后 WT-Yunyan87 和 *NtRNF217-OE* 烟草 CAT 和 SOD 活性及表达变化
(唐元满 供稿)

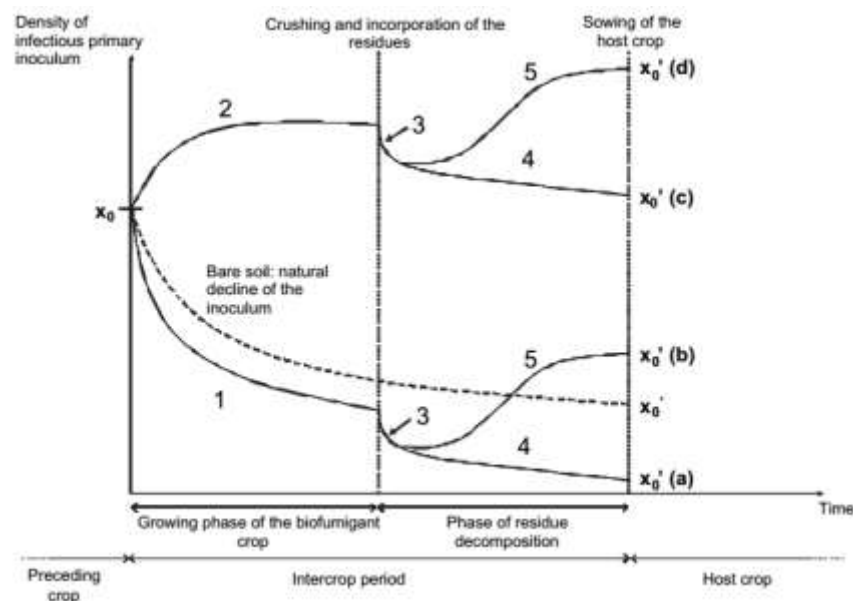
知识窗

广义的生物熏蒸防治土传病害的机制探讨

狭义的生物熏蒸是指芸薹属植物组织中硫代葡萄糖苷分解产生的异硫氰酸类挥发性化

合物抑制或杀死土壤中有害生物的方法。Larkin 等报道芸薹属植物能控制多种马铃薯病虫害，防治效果显著。不同芸薹属植物对不同植物病原菌抑制作用的强弱效果不同，芸薹属植物对病原菌抑制的强弱，主要取决于其所含硫代葡萄糖苷的种类和含量。然而有研究表明生物熏蒸防治土传病害的机制是复杂的，而不仅仅是植物降解过程中产生的有毒物质起作用。广义的生物熏蒸包括生物熏蒸植物的根际效应、生物熏蒸产生的化学物质对病原菌的抑制作用（狭义的生物熏蒸）以及土壤微生物在降解植物残体过程中的竞争效应。

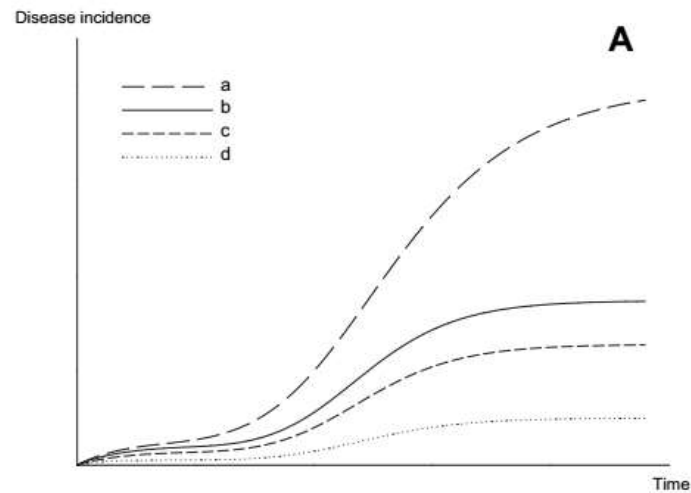
从系统学观点看，生物熏蒸防治土传病害的机制包括生物熏蒸植物根际或残体分解释放的有毒化学物质（如硫代葡萄糖苷）和生物熏蒸植物的“非寄主”效应对病原菌的直接抑制作用以及土壤微生物群落结构的改变和病原菌的拮抗菌对病原菌的间接抑制作用。生物熏蒸植物在生长和腐解过程中不可避免地改变病原菌种群数量，共有 5 种作用机制（图 1）。第一种机制是生物熏蒸植物根部通过释放有毒物质对病原菌的直接抑制作用和微生物群落结构的改变对病原菌的间接抑制作用。第二种机制是生物熏蒸植物通过根际分泌物刺激病原菌生长或者植物是病原菌的寄主。第三种机制是在生物熏蒸植物残体分解过程中产生的有毒物质对病原菌的直接抑制作用。第四种机制是病原菌数量的自然消退或者拮抗菌对病原菌拮抗作用。第五种机制是病原菌能在生物熏蒸植物残体中生长或者是拮抗菌的丧失。



生物熏蒸对土传病害的防治效果取决于上述五个作用机制的综合作用。如果生物熏蒸过程中拮抗菌数量大幅度增加或生物熏蒸植物的“非寄主”效应使病原菌数量下降，这种情况下病害发展曲线（图 2，c）与不种生物熏蒸植物处理（休闲处理）的发展曲线相类似（图 2，b），不同的是生物熏蒸后病原菌种群的数量比不种生物熏蒸植物的病原菌种群数量下降幅度更大。病原菌若具有腐生性，那在生物熏蒸过程中拮抗菌与病原菌间竞争效应使病原菌数量大幅度降低（图 2，d）。如果生物熏蒸不能增加拮抗菌的活性且病原菌可以在生物熏蒸植物残体中生长，那么在这种情况下土传病害的发病率将高于不种植熏蒸植物处理（休闲处理）

(图 2, a)。

从大田角度看,生物熏蒸涉及不同的阶段,分别为生物熏蒸植物的生长阶段、植物残体剪碎并添加到土壤中及植物残体腐解的过程。对于每一个阶段,我们都要从病原系统角度全面地考虑哪一种机制在发挥作用,以此综合评价不同生物熏蒸植物防治土传病害的效果。



(沈桂花 供稿)

最新主要参考文献

1. Brader G, Compant S, Vescio K, et al. Ecology and Genomic Insights on Plant-Pathogenic and -Nonpathogenic Endophytes.[J]. Annual Review of Phytopathology, 2017, 55(1).
2. Imperiali N, Dennert F, Schneider J, et al. Relationships between Root Pathogen Resistance, Abundance and Expression of Pseudomonas Antimicrobial Genes, and Soil Properties in Representative Swiss Agricultural Soils [J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8(100).
3. 麦靖雯, 黎瑞君, 张巨明. 根际微生物研究概况[J]. 现代农业科技, 2017(13).
4. 孙真, 郑亮, 邱浩斌. 植物根际促生细菌定殖研究进展[J]. 生物技术通报, 2017, 33(2):8-15.
5. 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.
6. Vu T T, Choi G J, Kim J C. Plant-derived Antibacterial Metabolites Suppressing Tomato Bacterial Wilt Caused by *Ralstonia solanacearum* [J]. Research in Plant Disease, 2017, 23(2): 89-98.
7. Wang R, Zhang H, Sun L, et al. Microbial community composition is related to soil biological

- and chemical properties and bacterial wilt outbreak[J]. Scientific Reports, 2017, 7.
8. Zhang C, Lin Y, Tian X, et al. Tobacco bacterial wilt suppression with biochar soil addition associates to improved soil physiochemical properties and increased rhizosphere bacteria abundance [J]. Applied Soil Ecology, 2017, 112: 90-96.
 9. Zhang H, Wang R, Chen S, et al. Microbial taxa and functional genes shift in degraded soil with bacterial wilt [J]. Scientific reports, 2017, 7: 39911.
 10. Niu J, Chao J, Xiao Y, et al. Insight into the effects of different cropping systems on soil bacterial community and tobacco bacterial wilt rate [J]. Journal of basic microbiology, 2017, 57(1): 3-11.
 11. Sotoyama K, Akutsu K, Nakajima M. Suppression of bacterial wilt of tomato by soil amendment with mushroom compost containing *Bacillus amyloliquefaciens* IUMC7 [J]. Journal of General Plant Pathology, 2017, 83(1): 51-55.
 12. Lee C G, Iida T, Inoue Y, et al. Prokaryotic Communities at Different Depths between Soils with and without Tomato Bacterial Wilt but Pathogen-Present in a Single Greenhouse[J]. Microbes and Environments, 2017: ME16136.
 13. Niu J, Chao J, Xiao Y, et al. Insight into the effects of different cropping systems on soil bacterial community and tobacco bacterial wilt rate[J]. Journal of basic microbiology, 2017, 57(1): 3-11.
 14. 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.
 15. Xiaolong L, Jianping S, Zhanwei Y, et al. Control Effect of Different Microbial Agents on Tobacco Bacterial Wilt[J]. Plant Diseases & Pests, 2017, 8(3).

（张淑婷 供稿）