

根茎病害研究通讯

Communications in Root and Stem Diseases Research

(2018 年第 4 期, 总第 62 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

2018 年 4 月 30 日

研究进展

微生物菌剂防治烟草根结线虫病的根际微生物功能多样性分析

本研究选取 T1、T2、T3、T4、T5、T6 处理分别为 0.5%阿维菌素颗粒剂、0.5%阿维菌素颗粒剂、5 亿活孢子/g 淡紫拟青霉颗粒剂、荧光假单胞杆菌、甲维丁硫水乳剂、哈茨木霉颗粒剂市面上较常用的微生物菌剂按照其使用方法进行处理, 运用 Biology-ECO 技术, 研究分析了不同微生物菌剂处理对烟草根结线虫病根际微生物功能多样性分析。

其中表 1 平均颜色变化率 (AWCD) 表征微生物群落碳源利用率, 反映了土壤微生物代谢活性, 其值越高, 土壤中微生物群落代谢活性也就越高。由表 1 可以看出, AWCD 随着培养时间的延长而逐渐增高。0-72h 之间变化较快, 72-168h 之间, 各处理逐渐趋于稳定, AWCD 顺序为哈茨木霉>5 亿活孢子/g 淡紫拟青霉>0.5%阿维菌素>甲维丁硫水乳剂>荧光假单胞杆菌>0.5%阿维菌素>CK。不同处理的 AWCD 值在整个培养时间内均高于 CK 处理的碳源利用, 表明土壤增施哈茨木霉、淡紫拟青霉等可以显著提高土壤微生物利用碳源能力, 且不同微生物菌剂效果不同。

通过主成分分析可以在降维后的主元向量空间中, 用点的位置直观地反映出不同土壤微生物群落功能多样性变化。第 1 个主成分 (PC1) 的方差贡献率为 36.96%, 第 2 个主成分 (PC2) 为 12.39%。由图 3 可以看出, 各处理间的碳源利用得分差异明显, 各象限均有分布。

图 3 呈现了不同处理根际土壤微生态对六大碳源的相对利用率, 可以看出和 CK 相比, 各处理对六大类碳源利用率均高于对照组, 表明处理土壤后可以显著提高土壤微生物对碳源的利用能力, 且土壤微生物代谢功能类群相似。T2 对胺类、碳水化合物类利用高于其它处理; T3 对胺类、聚合物类、碳水化合物类利用高于其它处理; T6 对胺、酚酸类、氨基酸类、碳水化合物类利用高于其它处理。

以上分析表明土壤增施哈茨木霉、淡紫拟青霉等可以显著提高土壤微生物利用碳源能力，且不同微生物菌剂效果不同。

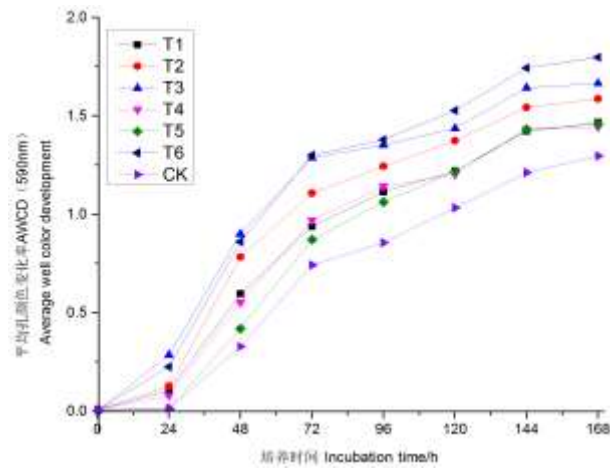


图 1 不同处理根际土壤微生物群落 AWCD 随着时间的变化

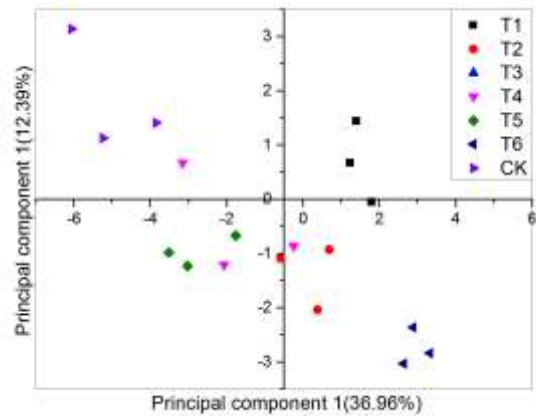


图 2 不同处理根际土壤微生物群落功能多样性的主成分分析

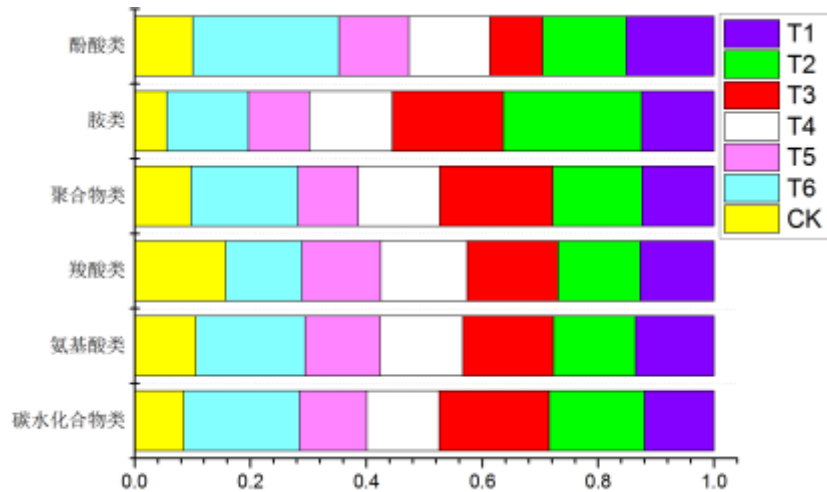


图 3 不同处理根际土壤微生物生态对六大碳源的相对利用率

(黄阔 供稿)

两种改良剂对酸性土壤 pH 值及对烟草生长的影响

土壤是植物在自然界中赖以生存的唯一环境,土壤的生态健康也是保障植物健康生长和促进植物生长的源头。土壤环境是一个极其复杂的生物功能区,维持土壤酸碱度平衡是稳定生态系统的基础保障。土壤酸化是土壤质量退化中一个重要方面,而烟草青枯病的发生与日益酸化的土壤密切相关。土壤改良剂具有改善土壤理化性质、促进作物养分吸收、协调土壤水、肥、气、热及生物间的关系等特点,有研究表明,生石灰具有良好的土壤调酸效果,但是长期使用会造成土壤板结、复酸程度加强、钙镁钾元素失衡等问题;其他的改良剂如磷石膏、磷矿粉、粉煤灰等工业废弃物改良剂,含有有毒金属元素,不适宜作为作物种植地的土壤改良剂。

牡蛎壳粉和硅肥是两种新型的改良剂,在土壤酸化改良方面的研究尚浅,为了探索两种改良剂对土壤酸碱度和对烟草生长的影响,西南大学烟草植保研究团队对两种改良剂进行了深入研究,发现牡蛎壳粉和硅肥除了提升土壤 pH 值外,还有促进烟苗早生快发,其中硅肥的促生效果和前期调酸效果较好,牡蛎壳粉的调酸持效期和总体调酸效果更好。对于改良酸化土壤,牡蛎壳粉和硅肥的改良效果各有不同,硅肥对土壤 pH 值的提升最快,在施药后 30d 左右达到最高,提升土壤 pH 值 0.87 个单位;牡蛎壳粉对土壤 pH 值的提升持效期最长,在施药后 60d 左右达到最高,提升土壤 pH 值 1.1 个单位。

表 1 两种改良剂对烟草生育期的影响

处理	生育期				
	移栽期	伸根期	团棵期	现蕾期	打顶期
1	4 月 28 日	5 月 12 日	5 月 28 日	6 月 23 日	7 月 2 日
2	4 月 28 日	5 月 12 日	5 月 25 日	6 月 22 日	7 月 2 日
3	4 月 28 日	5 月 12 日	5 月 27 日	6 月 23 日	7 月 2 日
4	4 月 28 日	5 月 12 日	5 月 28 日	6 月 23 日	7 月 2 日
5	4 月 28 日	5 月 12 日	5 月 28 日	6 月 24 日	7 月 2 日

注: 处理 1 为牡蛎壳粉; 处理 2 为偏硅酸钠; 处理 3 为牡蛎壳粉+偏硅酸钠; 处理 4 为生石灰; 处理 5 为空白对照, 下同。

表 2 两种改良剂对烟草团棵期农艺性状的影响

处理	株高 (cm)	有效叶片数 (片)	最大腰叶长 (cm)	最大腰叶宽 (cm)	最大叶面积(cm ²)
1	28.37±2.97a	8.46±0.24a	50.54±2.47a	23.78±2.01ab	791.28±98.69a
2	22.38±2.01a	8.67±0.27a	56.13±3.69a	30.56±2.73a	1129.21±158.49a
3	24.6±3.46a	8.00±0.31a	49.91±4.21a	26.98±2.07ab	891.98±127.07a
4	24.91±2.82a	8.47±0.29a	47.91±2.38a	23.45±2.33ab	746.98±111.01a
5	24.97±1.34a	8.27±0.29a	48.89±3.46a	23.05±2.47b	756.01±129.81a

注: 在 5 月 28 日团棵期调查时, 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, 下同。

表 3 两种改良剂对烟草现蕾期农艺性状的影响

处理	株高 (cm)	有效叶片数 (片)	最大腰叶长 (cm)	最大腰叶宽 (cm)	最大叶面积(cm ²)
1	69.8±2.43ab	17.20±0.26a	68.8±2.39a	30.2±1.62a	1326.36±112.16a
2	75.67±1.91b	17.20±0.28a	70.25±2.39a	35.25±3.88a	1581.49±204.25a
3	75.43±1.15b	16.93±0.27a	68.14±1.45a	31.64±0.72a	1370.81±55.79a
4	64.71±1.73a	17.40±0.31a	68.71±1.71a	32.14±2.38a	1368.79±126.99a
5	69±7.56ab	16.87±0.29a	67.33±0.80a	33.33±1.15a	1412.40±63.90a

注：在 6 月 23 日团棵期调查时，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，下同。

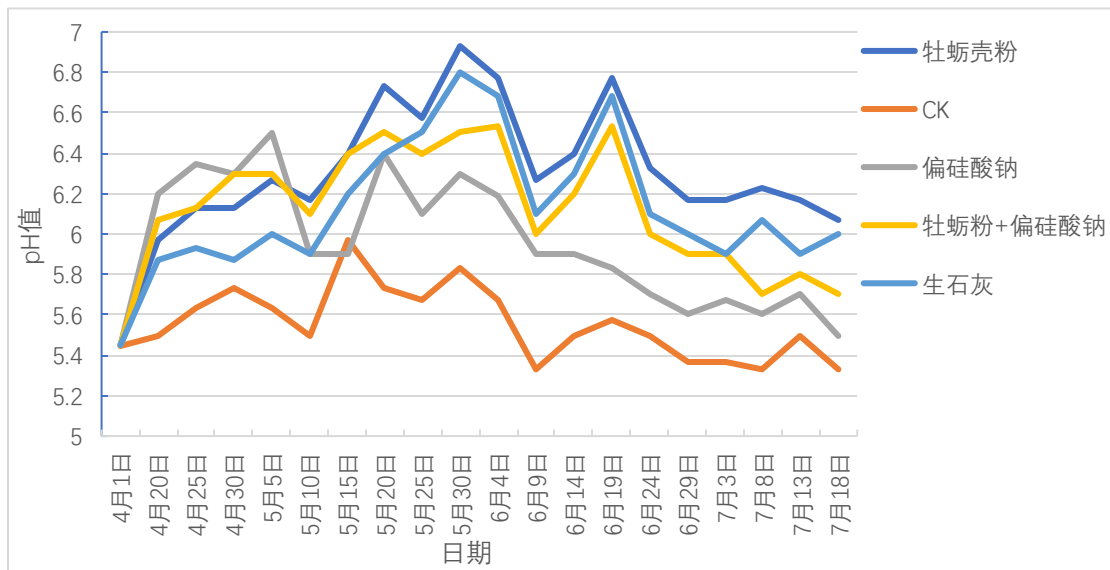


图 1 两种改良剂对土壤 pH 值的影响

(姬佳旗 供稿)

知识窗

利用噬菌体混合物防控马铃薯青枯病

细菌性枯萎病 (Bacterial wilt, 简称“青枯病”) 是马铃薯的一种破坏性疾病, 其病原细菌细胞在与替代宿主互作的情况下可以存活多年且易通过土壤、受污染的水源、农场设备和受感染的生物材料传播。研究发现, 裂解性噬菌体对于控制细菌性病害是安全有效的, 例如, Addy 等利用丝状噬菌体 ØRM3, 控制在温室条件下由青枯菌引起的番茄枯萎病^[1]。使用噬菌体来防治病害的显著优点包括: 对动物和环境安全, 易于生产, 其自身能自我复制和自我限制, 并能够克服细菌耐药性问题。然而, 在许多情况下细菌在遗传上是多样的, 因此对噬菌体的易感性不同, 细菌很容易变异而特别耐受噬菌体。因此, 从不同环境中分离的裂解性噬菌体混合物可能具有作为通用生物控制剂应用的潜力, 能降低其抗性出现的可能性。

为了研究使用噬菌体疗法控制马铃薯青枯病, Wei 等^[2]来自肯尼亚和中国的不同水源

中分离并鉴定了 12 种裂解性噬菌体。根据病原体青枯雷尔氏菌与噬菌体的裂解曲线，配制一种含有六种噬菌体分离物的最佳噬菌体混合物 P1，通过将 P1 用注射器注入植株或通过使用噬菌体溶液掺入土壤中能够有效地防治马铃薯青枯病。然而，P1 的处理效率取决于施用时间，植物对细菌的敏感性，以及感染细菌的毒力。植物出现细菌枯萎迹象的前期，就应利用噬菌体进行防治。同时，噬菌体似乎只能延迟或停止植株由于细菌枯萎病造成的死亡，但无法修复造成的损害。因此，噬菌体只能作为细菌性枯萎病的预防剂。

噬菌体为青枯病的生物防治提供了基础，其可作为抗生素药剂的替代方案，但是，要找到合适的应用噬菌体来预防青枯病的经济方法，仍需要进一步的研究。

参考文献：

- [1] Addy H S, Askora A, Kawasaki T, et al. Utilization of filamentous phage ϕ RSM3 to control bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum*[J]. Plant disease, 2012, 96(8): 1204-1209.
- [2] Wei C, Liu J, Maina A N, et al. Developing a bacteriophage cocktail for biocontrol of potato bacterial wilt[J]. Virologica Sinica, 2017, 32(6): 476-484.

（孙成成 供稿）

工程纳米材料在防控玫瑰灰霉病的潜在应用及抗真菌活性

纳米粒子（NP）由于其抗菌性而在生物医学，建筑材料和环境保护领域具有巨大潜力。然而，关于 NPs 对植物的抗真菌活性的报道很少研究学者们评估了 NPs 对灰葡萄球孢的抗真菌作用。灰葡萄球孢是一种在全世界臭名昭著的真菌病原体。研究学者将三种常见的碳纳米材料：多壁碳纳米管，富勒烯和还原的氧化石墨烯以及三种商业金属纳米氧化剂：纳米氧化铜（CuO）、纳米氧化铁（Fe₂O₃）和纳米氧化钛（TiO₂）分别配制成 50 和 200-mg/L 浓度的水琼脂平板。将分离的玫瑰花瓣接种灰霉病菌的孢子，并分别与六种纳米材料共培养。接种 72h 后，通过在扫描电镜下观察感染后玫瑰花瓣病变的大小，测定真菌在玫瑰花瓣上的生长情况。研究结果发现这六种纳米颗粒均抑制灰霉病菌的生长，但不同浓度有不同的效果。50 mg/L 富勒烯和纳米 CuO 表现出最强的抗真菌特性，而 200mg/L 的 CuO 和 Fe₂O₃ 没有显着的抗真菌活性。因此，NPs 在防止植物感染灰霉病上具有潜在抗真菌活性，并且它们可以在玫瑰和其他花的生长和采后期间用作抗真菌剂。



图1 (A) 50 和 200mg/L 不同纳米材料处理后感染了灰霉病的整株玫瑰花的形态照片；(B) SEM 观察不同纳米材料处理感染灰霉病的玫瑰花瓣超微结构。

(陈娟妮 供稿)

调控土壤微生物组以改善土壤质量

正如人类微生物学研究日益关注调控肠道微生物以改善人类健康一样，土壤微生物研究也日益关注调控农业土壤的管理。这可以通过添加特定的微生物来改良土壤、调控土壤以促进有益微生物的生长、或利用微生物作为难以直接测量的土壤条件或过程的“生物指示剂”来实现。例如，有长期的研究结果解释了向土壤中添加特定的细菌或菌根接种物促进植物生长的机制^[1,2]。而且有证据表明，我们可以主动地调控土壤微生物群落增强植物对病害的抑制能力^[3]，减少土壤侵蚀^[4]和加快重金属污染土壤的修复^[5]。此外，我们还可以利用关于氨氧细菌的丰度的信息来避免施肥减少硝酸盐浸出的发生^[6]。

虽然通过调控土壤微生物组可以显著提高农业生产率和可持续性的方法有很多，但可以说细节决定成败，因为这是一个非常复杂的领域。对作物生长的绝对理想的土壤微生物群落是无法被定义的，就像一个看似健康的人类群体可以包含非常独特的肠道微生物群落一样^[7]。原因之一是有益的微生物群落高度依赖环境。例如，单一微生物群落不可能普遍促进作物生长，赋予作物抗病性和调节有限的营养物质。此外，在某些条件下微生物可能是有益的但在其他条件下其可能是致病或有害的^[8]。有益的微生物群落的定义将取决于以下几个方面：我

们如何界定“有益的微生物群落”、特定的作物、这些作物面临的生物或非生物挑战以及特定的土壤条件。我们需要一种类似于个性化医疗的方法^[9]，如果不考虑环境因素，仅仅知道在土壤中发现了什么微生物或引入了什么微生物，将产生一定的应用前景。对于越来越多正试图利用土壤微生物群落来改善农业的公司来说，这些潜在的问题显然是一个挑战。

参考文献：

- [1] Bashan Y, De-Bashan L E, Prabhu S R, et al. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: formulations and practical perspectives (1998–2013)[J]. *Plant & Soil*, 2014, 378(1-2):1-33.
- [2] Jeffries P, Rhodes L H. Use of Mycorrhizae in Agriculture [J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 1987, 5(4):319-357.
- [3] Kinkel L L, Bakker M G, Schlatter D C. A Coevolutionary Framework for Managing Disease-Suppressive Soils [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2011, 49(49):47.
- [4] Chiquoine L P, Abella S R, Bowker M A. Rapidly restoring biological soil crusts and ecosystem functions in a severely disturbed desert ecosystem [J]. *Ecological Applications*, 2016, 26(4):1260-1272.
- [5] Wood J L, Tang C, Franks A, et al. Microorganisms in heavy metal bioremediation: strategies for applying microbial-community engineering to remediate [J]. 2016.
- [6] Wessén E, Söderström M, Stenberg M, et al. Spatial distribution of ammonia-oxidizing bacteria and archaea across a 44-hectare farm related to ecosystem functioning [J]. *The ISME journal*, 2011, 5(7): 1213.
- [7] Huttenhower C, Gevers D, Knight R, et al. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome[J]. *Nature*, 2012, 486(7402): 207.
- [8] Johnson N C, Graham J H, Smith F A. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism–parasitism continuum[J]. *New phytologist*, 1997, 135(4): 575-585.
- [9] Hamburg M A, Collins F S. The path to personalized medicine [J]. *New England Journal of Medicine*, 2010, 363(4): 301-304.

（沈桂花 供稿）