

根茎病害研究通讯

Communications in Plant Root and Stem Diseases Research

(2018 年第 7 期, 总第 65 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 7 月 31 日

工作动态

“四川烟草根茎病害发生机制及绿色防控技术研究与应用” 项目顺利通过中期检查评估

四川是烟草种植大省,但近些年根茎病害的持续发生引起烟叶产量损失逐渐加重,成为影响烟叶发展以及当地农民致富的重要限制因子,于此 2017 年西南大学丁伟教授团队与四川省烟草公司合作,致力于揭示四川烟草根茎病害发生机制,寻找绿色防控技术。

7 月 2 日-4 日,受实验室主任丁伟教授委托,陈娟妮老师、李石力博士参加四川省科技项目中期检查汇报会,对所承担的四川烟草根茎病害发生机制及绿色防控技术研究与应用项目进行现场介绍与室内汇报。四川省烟草公司科技处处长雷强、四川烟科所所长肖勇等领导、专家参加了此次会议。

7 月 3 日上午,项目检查组罗辉副处长、肖勇所长等前往泸州双沙基地单元烟草根茎病害绿色防控技术集成示范区进行现场考评。项目组成员李石力博士就整个项目在四川地区开展的情况进行了详细的介绍,强调“2018 年项目组在四川地区在攀枝花、凉山地区进行大田示范与小区试验,而泸州地区主要以示范应用为主,并且以青枯病防治为主攻目标”,在考评过程中,项目组详细汇报了示范区技术集成的三大关键技术,酸碱调控、菌剂调控、营养补施,并对当前的防治成效进行展示,田间的示范效果也得到了领导专家们的一致认可。

下午,项目组进行了室内汇报,李石力博士主要对 2017-2018 年项目组在四川烟草根茎病害发生种类与范围、影响机制以及关键的调控技术等 6 大成果进行详细的阐述,并提出针对不同靶标根茎病害的关键控制技术。通过此次汇报,项目组基本上完成了 2017-2018 年两年的任务与考核指标,也为下步研究奠定了良好的基础。



项目成员对 2017-2018 年项目开展情况进行田间与室内汇报

(李石力 供稿)

研究进展

西南大学植物青枯病研究团队获得的链霉素抗性菌株的生物学特征评价

西南大学植物青枯病研究团队前期在实验室室内长期培养的过程中获得了对链霉素具有超强耐受性的菌株 S 系列和 Str45 系列各 5 株。为了了解链霉素抗性菌株与敏感菌株之间是否存在生理生化方面的差异，我们对各个菌株的生长情况、pH 适应性、渗透压敏感性等各项特性进行了系统比较，旨在为今后更有效的防控该菌引起的青枯病提供理论基础。从我们的评价结果来看，在丰富营养液体培养基中，链霉素抗性菌株（S-1、S-2、S-3、S-4、S-5、Str45-1、Str45-2、Str45-3、Str45-4、Str45-5）与敏感菌株（CQPS-1、CK45-1、CK45-2、CK45-3、CK45-4、CK45-5）的生长情况并没有明显差异（图 1）；而在进行 pH 适应力实验的时候我们发现，链霉素抗性菌株 S-1 在较低 pH 下仍具有生长优势（图 2）；同样的，在进行渗透压敏感性实验时，我们发现了菌株 S-1 同样具有抗高渗透压的能力，能在含 6% NaCl 的培养基生长（图 3）。链霉素抗性菌株与敏感菌株之间是否还存在其他生态适合度方面的差异还正在进一步评价，同时，菌株抗链霉素的分子机制是否在调控其生长致病过程起到一定作用也有待更深入探究。

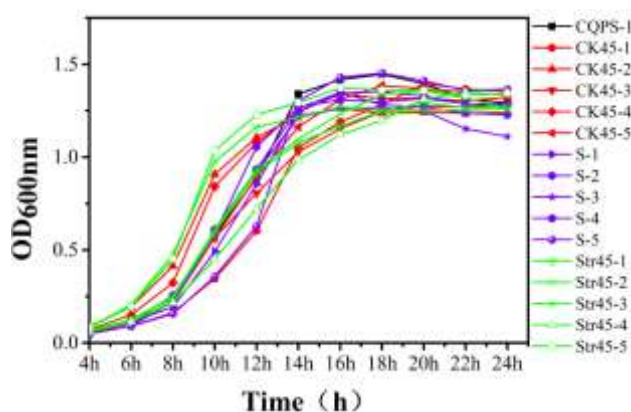


图 1 链霉素抗性菌株（S 系列和 Str45 系列）与敏感菌株（CQPS-1 以及 CK45 系列）的生长曲线

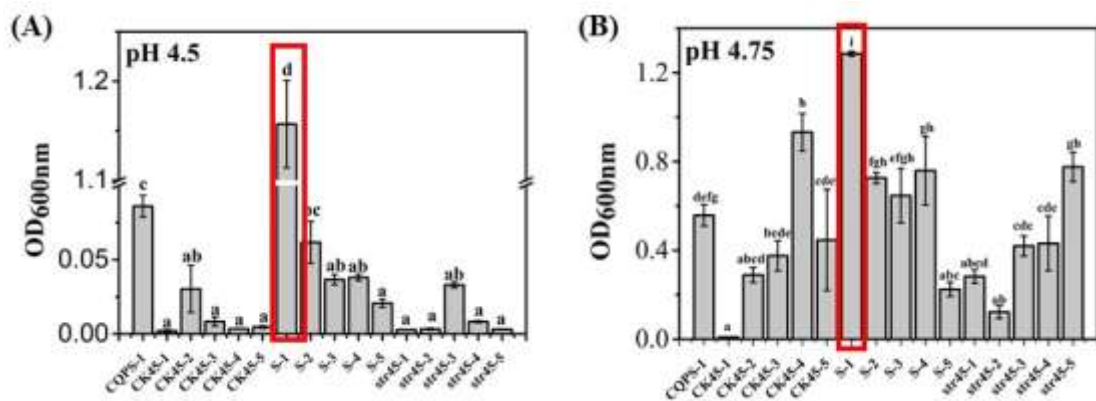


图2 链霉素抗性菌株（S 系列和 Str45 系列）与敏感菌株（CQPS-1 以及 CK45 系列）在低pH 条件下的生长情况

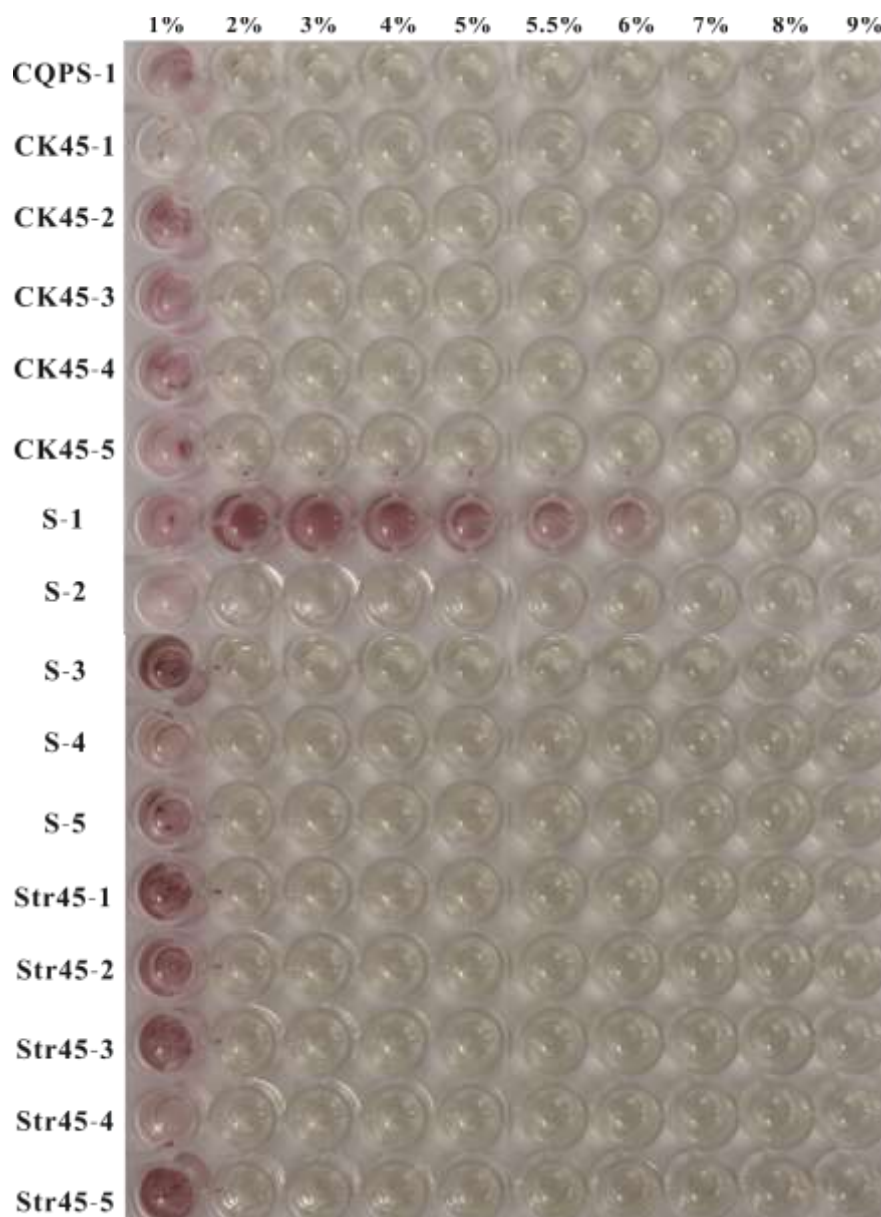


图3 链霉素抗性菌株（S 系列和 Str45 系列）与敏感菌株（CQPS-1 以及 CK45 系列）的渗透压测定情况

（刘颖 供稿）

微生物群落构建过程的趋简性在病害研究中的应用展望

从植物生长以及宿主健康到生物地球化学循环过程，微生物群落都发挥着关键作用。在特定环境条件下，植物与环境微生物形成了密不可分的联系，一方面受四季变换、植物生育期和天气气候等环境因素的影响，土壤微生物群落存在变异性。另一方面，与植物的长期互作过程又使得特定时间节点的土壤微生物结构具有确定性，其演变具有一定趋向性，有迹可循。快速进展的 DNA 测序技术能够以高分辨率映射这些群落的组成。这促使人们越来越关注控制微生物群落构建和功能的生态机制。为了设计合理有效的调控微生物群落定向发展的策略，需要对微生物群落生态学进行定量和预测性的理解。

Joshua 等人采用非原位培养结合高通量测序的研究方法，将 12 个从自然环境中（土壤以及植物叶片）采集的具有稳定生态特征的微生物群落在良好可控的条件下，以葡萄糖为唯一碳源的基本合成培养基进行连续稀释培养。每次稀释转移的同时进行 16S rRNA 扩增子序列（每个稀释循环约 7 代），分析其细菌群落结构，以监控这些微生物群落的自发构建过程（图 1）。通过高分辨率序列去噪来识别 ESVs (exact sequence variants), ESVs 代表了物种水平上的群落结构。

12 个初始生态系统均为大型多物种微生物群落，具有高度多样性以及丰富的分类，物种数在 110~1290 的范围内。大约经过 60 代单一碳源培养后，几乎所有的实验组均达到稳定的群落平衡。对稳定后的微生物群落多样性分析显示，10000 条 reads 中含有 4-17 个 ESVs，主要汇聚到肠杆菌科（Enterobacteriaceae）以及假单胞菌科（Pseudomonadaceae）。该结果表明，这些群落尽管在种水平上存在一些差异，但是在科水平上非常接近。说明：稳定群落尽管在物种水平上发生巨大的变化，但是在菌群水平的功能以及粗略的分类水平上都是高度可预测的，并且受到营养有效性的控制。起源各异的群落其最终物种结构组成却十分相似，表现出复杂群落在特定环境下群落重构具有趋简性（图 3）。

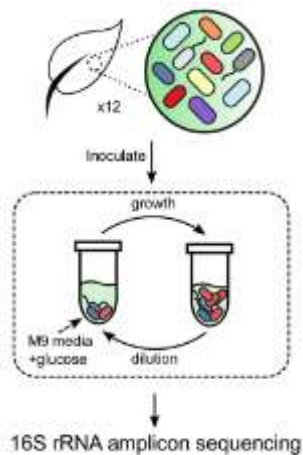


图 1 微生物单一碳源连续稀释培养

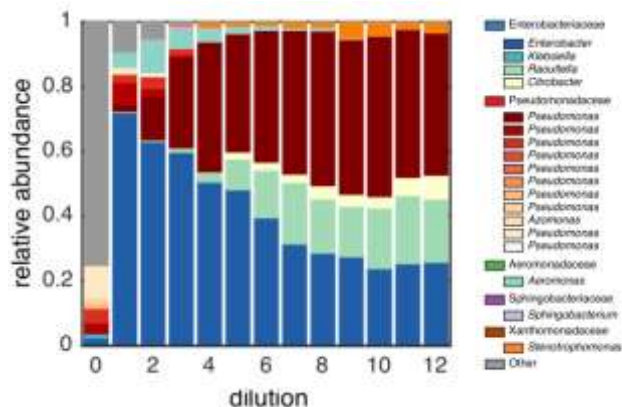


图 2 微生物群落结构随连续单一碳源稀释培养趋于稳定

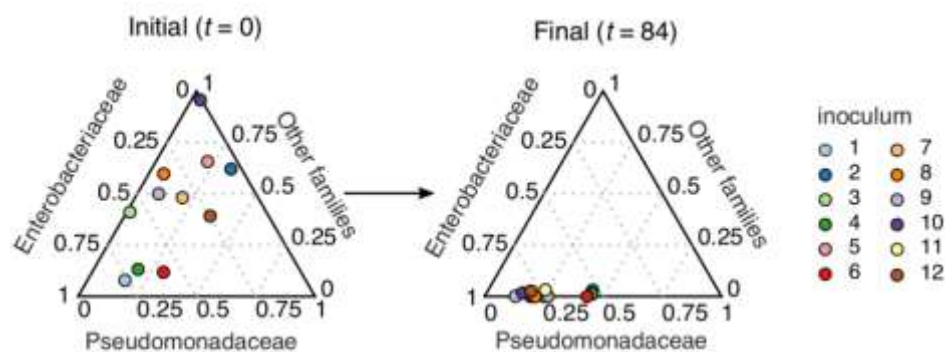
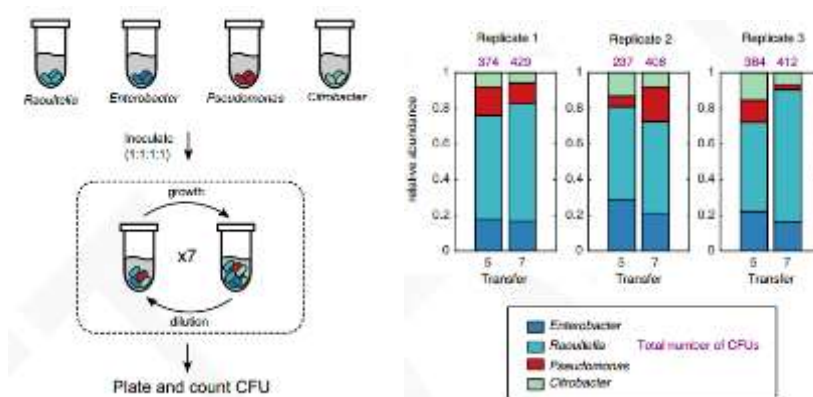


图3 连续单一碳源稀释培养后微生物群落重构

笔者认为，根茎病害防控研究可以借鉴上述研究思路：一、采用 Joshua 等人培养方法，室内培养青枯病发病或不发病(土壤带青枯菌)土壤微生物群落，实时定量监测青枯菌含量，同时进行微生物群落结构动态检测，通过改变培养条件，筛选可明显使青枯菌含量降低的微生物群落结构（抑病微生物群落，如图 1 所示）。二、在上一步的基础上，可分离纯化和土壤青枯菌相关的土壤微生物类群，以不同类群与青枯菌共培养，筛选能显著抑制青枯菌生长的微生物群落（如图 2 所示）。



参考文献：

Goldford, J. E., Lu, N., Bajić, D., Estrela, S., Tikhonov, M., Sanchez-Gorostiaga, A., Segrè, D., Mehta, P., Sanchez, A. (2018). Emergent simplicity in microbial community assembly. *Science*. 361(6401): 469-474. DOI: 10.1126/science.aat1168.

（江其朋 供稿）

氧化石墨烯对白腐真菌的毒性效应研究

随着石墨烯及其衍生物的广泛应用和发展，它们对环境的毒性现在备受关注。此项研究中，研究了氧化石墨烯（GO）对白腐菌（*Phanerochaete chrysosporium*）的毒性作用。首先采用改良的 Hummers 方法合成 GO，紧接着，白腐菌在浓度为 0-4mg/mL 的 GO 中培养 7 天，测量菌丝鲜重和干重，培养基 pH 值。通过电镜测定菌丝超微结构，测量污染物的红外光谱和分解活性揭示 GO 对白腐菌的危害。研究表明，低浓度的 GO 刺激白腐菌的生长，且在孵育 7 d 后，生长于 GO 诱导培养基的白腐菌酸性 pH 值更高。4mg/mLGO 显著性破坏白腐菌纤维结构，形成一些非常长的、厚的纤维。这种变化反映在扫描电子显微镜研究中，发现菌丝纤维是断裂的，且白腐菌菌丝细胞形态发生改变，伴随着产生较多的囊泡。红外光谱分析表明菌丝的化学成分没有发生质的变化。除毒性之外，GO 在低浓度时不改变白腐菌的活动，但在高浓度下会显著性导致真菌完全丧失活性。

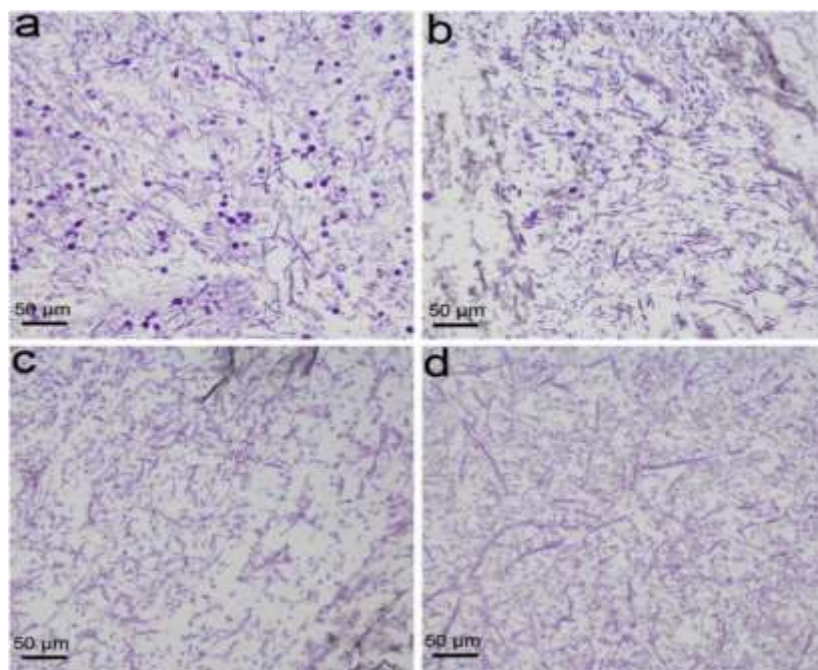


图 1. PAS 染色观察白腐菌。(A) 空白处理；(B) 白腐菌培养于 0.1mg/mLGO；(C) 白腐菌培养于 2mg/mLGO；(D) 白腐菌培养于 4mg/mL 的 GO。

（陈娟妮 供稿）