

根茎病害研究通讯

Communications in Plant Root and Stem Diseases Research

(2019 年第 1 期, 总第 71 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

2019 年 1 月 31 日

工作动态

紧抓生产关键期, 绿色防控根茎病害首席团队身先力行

根茎病害是烟草危害最为严重的病害之一, 其危害病原种类多, 发生因素较多, 最为难防难治。作为国家烟草专卖局根茎病害防控的首席团队, 丁伟教授通过多年的室内研究、田间验证、技术组配与产品开发, 形成了一套防治根茎病害的理论、技术与产品体系, 并形成了较好的示范成效。为了更好的推进防治根茎病害的相关主推技术的扎实落地, 2019 年年初, 丁伟教授团队前往不同植烟生态区进行前期的工作推进与技术商讨, 重点落实 2019 年的根茎病害几项关键主推技术的落实与推广, 并通过示范辐射各地区周边区域推动关键技术的大面积推广。

1 月 7 日、9 日、16 日、23 日-31 日, 首席专家丁伟教授及团队成员分别前往四川泸州、宜宾、凉山、攀枝花、贵州遵义、重庆等地区, 通过调研、共同讨论, 调研过程中项目组系统的分析了各地区根部茎病害发生的种类与原因, 针对不同地区的生态条件、病害发生问题, 结合生产技术, 项目组提出了不同解决方案与主推技术, 其中主要介绍了基质拌菌与有机肥拌菌技术对烟苗根际健康, 烟草抗性与根茎病害预防中的机理与作用。通过协商与讨论, 项目组确定了不同地区主推技术的示范区域与推广面积, 为 2019 年的工作开展与主推技术的推广奠定基础。



图 1 首席团队前往多个地区进行调研与技术商定

（李石力 供稿）

基质拌菌技术在重庆、四川、贵州等地区大面积落实

西南大学丁伟教授首席团队经过多年的研究，在理论体系、技术体系、产品体系方面形成了多项根茎病害的关键防治手段，其中基质拌菌技术是控制根茎病害重要手段之一，该项技术在 2019 年作为国家烟草专卖局在控制根茎病害过程中的主推核心技术，在全国进行推广应用。

根据国家局对于基质拌菌技术的推广任务，2019 年 1 月，根茎病害首席团队着手对该技术进行大面积全面落实、物资的全面配套。其中该技术主要应用于西南高原生态区、武陵秦巴生态区、黄淮烟区、黔桂生态区四个植烟生态区，包括四川、重庆、陕西、贵州、河南等地区，建立基质拌菌的核心示范区 12 个，总面积 3050 亩，其次在该区域进行大面积推广示范，总面积达到 10 万余亩。为了确保基质拌菌技术的有效落实，1 月份项目组成员前往各示范区域进行基质拌菌不同环节的操作技术进行培训与指导，保证基质拌菌后期对烟苗的长势效果。

表 1 2019 年基质拌菌技术应用区域与面积统计表

地区	核心示范区面积（亩）	技术推广面积（万亩）
重庆	1000	3
四川	1500	6
贵州	500	1
河南	500	0.3
陕西	100	0.3
总计	3600	10.6



图 2 项目组成员前往各地区进行基质拌菌操作指导与示范

（李石力 供稿）

国家局绿色防控根茎病害研究首席团队 2018 年度总结会 顺利召开

2019 年 1 月 20 日，国家局绿色防控根茎病害研究首席团队 2018 年度工作总结会在西南大学植保学院 2 楼会议室召开，项目组首席科学家丁伟教授，成员罗金香副教授、陈娟妮老师，博士后李石力、肖庆礼等 50 余人参加此次会议。

此次会议，项目组成员分别对各自承担的任务进行了详细的汇报，主要包括烟草根系信号分子与青枯菌之间的互作关系，烟草根际微生物种群特征，烟草青枯菌遗传进化，以及微生物关键调控技术等方面，其中项目组找到了影响青枯病发生的关键的信号物质，以及关键的微生物抑病种群；并在基础研究方面明确了青枯菌在不同环境中以及药剂胁迫下的适应机制；而对于微生物调控防治根茎病害的关键技术研究方面，项目组形成了以基质拌菌、有机肥拌菌等多种技术，并研发出了针对性的产品苗强壮、根茎康、牡蛎粉等。

此外，在成果形成方面 2018 年项目组共发表 SCI 等核心论文 11 余篇，申请专利十余项，研究室编撰出版《中国烟草青枯病志》和《烟草有害生物的调查与测报》两本专著，同时项目组在全国建立 13 个烟草绿色防控根茎病害调控基地，并形成了良好的示范效应，在示范基地培训相关技术人员上千人。在技术宣传与会议召开方面，项目召开全国第二届青枯病大会与根茎病害绿色防控交流会；在人才培养方面，项目组培养了 2 位优秀博士生和多名研究生毕业生。

2019 年项目组将继续围绕根茎病害的根际微生态调控的基础与应用研究工作同时开展，进一步分析拮抗微生物种群在防治根茎病害的原理与机制，并优化现有产品与技术，加大对主推技术基质拌菌与有机肥拌菌相关技术的大面积示范推广。此外建立每个地区的核心示范区，并做好关键技术的辐射推广，技术培训，形成效应。



图 3 项目组 2018 年度总结交流会

基质拌菌技术对烟草苗期生长发育的影响

采用多粘类芽孢杆菌剂、枯草芽孢杆菌剂、哈茨木霉菌剂、苗强壮菌剂与育苗基质进行混合，对烟苗生长期的发育情况进行统计分析。由表 1 数据可知，处理 T1 在最大叶长、地上部鲜重和地下部鲜重与对照具有极显著差异($P<0.01$)，分别比对照减少了 27.9%、50.7%、81.8%；在茎高、茎粗与对照具有显著差异($P<0.05$)，分别比对照减少了 18.6%、19.0%；在根系总长上虽然没有显著性差异($P=0.100$)，但在数值上仍然减少 43.0%。处理 T2、T3、T4 与对照没有显著性差异($P_{T2}=0.550$ 、 $P_{T3}=0.859$ 、 $P_{T4}=0.728$)，总体上各项测量指标的大小均优于对照；仅有处理 T2 的茎粗、根系总长、地上部鲜重和地下部鲜重比对照减少了 9.5%、9.6%、2.7%、27.9%；处理 T3 在根系总长、地上部鲜重和地下部鲜重比对照增加了 29.3%、25.1%、21.8%，比 T1 增加了 148.4%、154.0%、440.0%。

处理 T1 与其他处理的直观观测是 T1 在各个性状指标方面均小于其他处理，其可能的原因是由于处理 T1 的发芽时期晚，导致达到观测时期与其他发芽早、发芽整齐的处理相比，其相对生长时期就缩短了，从而显现植株矮、叶片小。在这个时期，处理 T3 拥有最佳的促生效果。

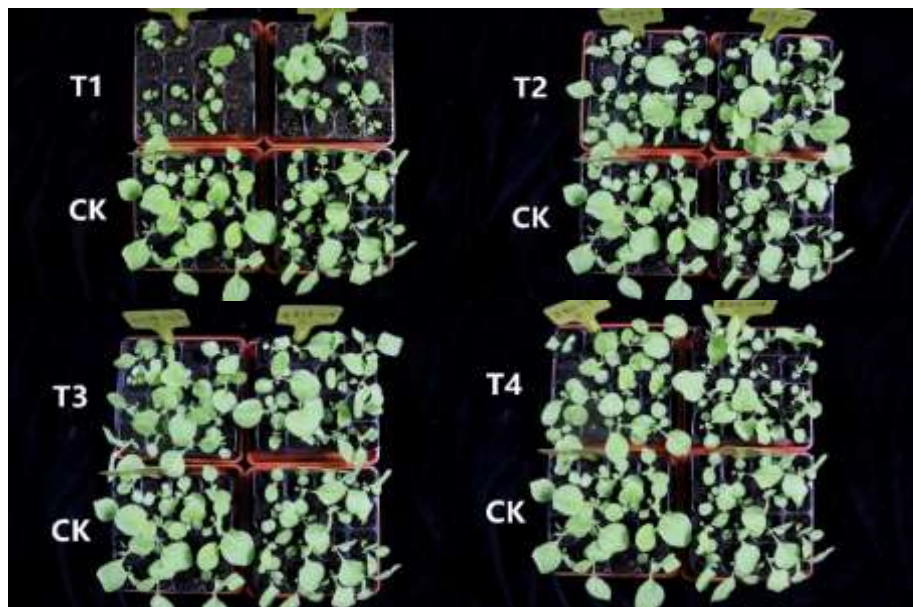


图 1 不同处理对烟苗生长早期植株形态大小比较

T1: 育苗基质混合多粘类芽孢杆菌剂 5.33g/盘; T2: 育苗基质混合枯草芽孢杆菌剂 5.33g/盘; T3: 育苗基质混合哈茨木霉菌剂 5.33g/盘; T4: 育苗基质混合苗强壮菌剂 5.33g/盘; CK: 空白对照

表 1 不同处理对烟苗生长早期农艺性状比较

处 理	最大叶长 /cm	茎高/cm	茎粗/cm	根系 总长/cm	地上部 鲜重/g	地下部 鲜重/g
T1	3.70± 1.22bB	0.60± 0.18bB	0.17± 0.06bB	2.25± 1.05bB	0.200± 0.220bB	0.010± 0.009bB
T2	5.45± 0.48aA	1.07± 0.21aA	0.19± 0.04abAB	3.57± 0.89abAB	0.395± 0.105aA	0.043± 0.027aA
T3	5.38± 0.90aA	1.06± 0.37aA	0.23± 0.06aA	5.59± 2.56aA	0.508± 0.170aA	0.067± 0.020aA
T4	5.46± 0.70aA	1.06± 0.25aA	0.23± 0.03aA	4.72± 3.01aAB	0.404± 0.134aA	0.054± 0.022aA
C	5.13±	0.86±	0.21±	3.95±	0.406±	0.055±
K	0.30aA	0.17aAB	0.04aAB	1.33abAB	0.090aA	0.023aA

对叶绿素含量进行分析, 由图 2 数据可知, 处理 T1 在各项叶绿素含量指标与对照处理具有极显著差异 ($P<0.01$), 在叶绿素 a 含量 (Ca)、叶绿素 b 含量 (Cb)、叶绿素 a 和 b 总量 (Ct)、类胡萝卜素总量 (Cx) 上比对照增加了 26.5%、27.2%、26.8%、24.6%; 处理 T2、T3、T4 与对照均没有显著差异 ($P_{T2}=0.514$ 、 $P_{T3}=0.323$ 、 $P_{T4}=0.976$), 处理 T2 在 Ca、Cb、Ct、Cx 的含量比对照减少了 11.3%、7.4%、10.6%、11.7%, 处理 T3 在 Ca、Cb、Ct、Cx 的含量比对照增加了 3.1%、9.5%、4.4%、3.7%, 处理 T4 在各项指标的数值上略小于对照, 但均不超过 2.1%。

处理 T1 叶绿素含量在数值上大于所有处理, 但却是所有处理中株型最小的, 其原因可能是由于处理 T1 作为相对发育时期最短的处理, 其生长需求大、生长势高、代谢旺盛、营养需求强烈, 从而叶绿体发达, 叶绿素含量高; 同时因为株距在 3cm 左右, 处理 T2、T3、T4、CK 的叶片都在 4cm 以上, 存在叶片相互遮挡的现象, 从而可能使叶绿素含量偏低。

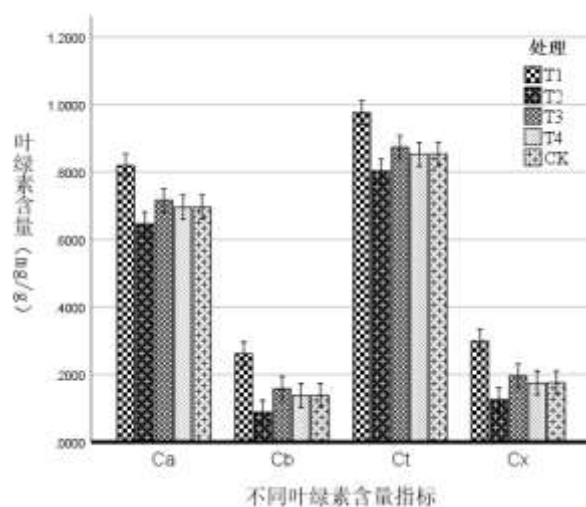


图 2 不同处理对烟苗生长早期叶绿素含量比较

生物屏障与植物健康密切相关，是指导防治烟草根茎病害的重要理论

1. 植物健康防御的三个屏障

植物健康维护是靠自身强大的防御系统实现的。植物作为一个系统的生物体，在其生命活动的过程中，要面临各种生物的和非生物的胁迫，如空气污染、土壤酸化、营养失衡、干旱、洪涝、机械损伤等，尤其是有害生物对植物的侵害，时刻威胁着植物的健康乃至生命^[1]。植物的一生都在与这些胁迫进行着斗争，在长期的适应和进化过程中，植物演替出了强大的防御系统，利用这些防御机制，植物顽强地生存着。植物的防御方式各式各样，可以有物理的、化学的、生物学的等。这些机制可以确保植物遇到任何逆境都会启动防御系统做出防御反应，并与这些胁迫协同进化，达成某种平衡，实现植物的健康和持续发展。

根据目前的研究，植物的防御系统主要有三个方面组成，一是物理防御：包括植物形成的角质层和细胞壁，植物感病时会导致植物细胞壁的木质化，为阻止病原菌的进一步侵染提供了有效的保护圈；胼胝体（callose）广泛分布在高等植物中，一般能在韧皮部的筛管中找到，在这里形成筛板，病原物入侵后在细胞壁中也有胼胝体的积累，造成壁的加厚或者形成乳头状的小突起，它围绕在感病部位可能有阻碍病原物扩散的作用；此外，植物生存环境周围的物理阻隔也是一种物理防御^[2]；二是化学防御，主要是植物产生的大量的次生代谢物质，如香豆素类、多酚类、黄酮类、柠檬素类化合物等，此外，植物体内存在的活性氧、PR 蛋白，抗菌性蛋白，葡聚糖酶、几丁质酶、蛋白酶、蛋白酶抑制剂等都发挥着抗御生物和非生物胁迫的作用；很多植物受到侵害时会发出信号（乙烯、茉莉酮酸甲酯）向自身其他器官或者其他植物“报警”或者求救也是一种化学防御^[3]；三是生物屏障，在生物体及其由生物体自身影响下的生长环境中大量微生物发挥着抗御各种植物灾害的作用，这一防御机制叫生物防御，由此而形成的植物健康保障体系叫生物屏障。植物与生境的微生物组成的相互依赖又相互作用的微生态系统，并由此构成了植物健康的生物防御保障体系，这是生物屏障发挥作用的关键。植物与微生物关系十分密切，以植物为核心，有附生微生物和内生微生物，而附生微生物包括根际微生物、叶际微生物以及茎际微生物等；内生微生物则包括寄生微生物和共生微生物等^[4]。附生微生物中有一部分微生物可以根据和寄主的互作关系从自由生活突破物理屏障转变成寄生生活，从而进入寄主体内成为内生生物，内生菌和寄主互作，再突破化

学屏障而转变成病原菌，导致植物生病。而植物周围的绝大部分附生微生物以及体内的内生生物则扮演着呵护植物健康、防御有害生物侵染，甚至与植物共存亡的角色。

从植物生理学观点来看，植物抗病性是植株的形态结构和生理生化等综合效应在时间和空间上综合表现的结果，是有关抗性基因通过表达，代谢和产生一系列抗病物质来实现调控的，这可以理解为植物的物理屏障和化学屏障的综合作用。而实际上，植物周围的微生物和由微生物与营养因子等形成的植物微生态环境对植物的抗病性发挥着十分重要的作用，而这方面的研究目前还十分有限。

2. 生物屏障的作用

强大的生物屏障是靠生活在植物周围的微生物之间以及与植物的相互作用实现的。Stéphan^[4]在《Cell Host & Microbe》上发表了关于脊椎动物肠道微生物与植物根及根际微生物具有相似性，尤其在养分吸收方面有着类似的生理功能的研究报告，初步揭示了根际微生物的营养保障功能。动物的肠道和植物的根际都被各种各样的细菌和古菌、真菌、卵菌以及病毒所定殖，这些微生物也被认为是寄主“额外”的基因组，它们的存在为寄主提供了大量潜在的功能^[5]。在肠道研究中，由益生菌主导形成的微生态平衡系统被称为生物屏障（organism barrier），它是阻止肠道有害物质进入体液循环的重要一环^[6]。而在植物根部研究中，具有抑病性特征的土壤微生物组也是通过在植物根部形成平衡的微生态系统，达到阻止病原菌入侵的目的，由此形成了抑病型土壤（disease suppressive soil）的概念^[7]。2018年，西南大学丁伟教授在重庆召开的第二届植物青枯病大会上，系统地阐述了植物健康防御的三个屏障，并首次提出了植物生物屏障的概念，这将为今后植物医学的研究开辟一个新的领域。

由生活在植物周围及植物内的微生物构筑起的强大的生物屏障，时刻保护着植物的安全。生物屏障发挥作用有四种情况：（1）生态位竞争，通过早期定植、占领位点，竞争抑制病原菌生长而将病原微生物拒之门外；（2）拮抗作用，通过微生物的代谢物，特别是产生抑菌物质拮抗或者消灭一些病原微生物；（3）诱导植物产生系统抗性或者相关的酶类；产生次生代谢产物，促进植物生长或养分吸收（4）活化土壤、分解自毒物质，创造有利于植物和有益微生物生长的环境。

在植物的根际和叶际环境中还存在着与植物生长没有直接关系的中性微生物，这些微生物在病原菌与寄主互作的过程中也扮演着重要角色^[5]。从土壤到植物根际再到植物体内，微生物组成的多样性逐级递减，而生物屏障的作用越来越大；而且生物屏障与植物的化学屏障的协同作用也在逐步增强。在长期历史进化过程中形成的正常微生物群与其宿主在不同发育阶段的动态的生理性组合是形成根际微生态的基础，微生态平衡是一个生命体健康的基本前

提^[8]。而营养、气候、化学品和特殊的生物会影响到微生态的平衡。微生态平衡也是物理屏障、化学屏障与生物屏障的综合体。植物病害的发生,可以理解为植物的微生态失去了平衡,给病原菌的入侵提供良好的契机。细菌性青枯病的发生,即为青枯病突破了各种屏障,打破了根际微生态平衡,成功实现了对植物的入侵、定植与增殖。

从目前的报道情况看,参与生物屏障形成的有益菌主要包括农杆菌属 *Agrobacterium* spp、假单胞菌属 *Pseudomonas* spp、芽孢杆菌属 *Bacillus* (枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*、地衣芽孢杆菌 *Bacillus licheniformis*、多粘类芽孢杆菌 *Paenibacillus polymyxa* 等)、链霉菌属 *Streptomyces* spp 和木霉菌 *Trichoderma* (哈茨木霉 *Trichoderma harzianum*) 等。这些有益微生物即使在同一个属中,发挥生物屏障的功能也会有很大的差异,如多粘类芽孢杆菌可以在植物根系表面聚集,形成特异性的菌膜来阻隔病原菌的入侵,但菌株之间的差异则可能表现为一些菌株擅长聚集在根毛的表面,而有些菌株则游离根表,而活动在根际环境中。生物屏障抗御的主要有害生物对象为:包括细菌(如:茄科雷尔氏菌 *Ralstonia solanacearum*)、卵菌(如:疫霉菌属 *Phytophthora* spp 和腐霉菌属 *Pythium* spp.)和真菌(如:镰刀菌属 *Fusarium* spp.,立枯丝核菌 *Rhizoctonia solani*, 核盘菌属 *Sclerotinia* spp., 菌核菌属 *Sclerotium* spp.,和黄萎病菌 *Verticillium dahliae*)等,此外,根肿菌(*Plasmodiophoromycetes*), 线虫(*Aschelminthes*)等可以通过生物屏障进行抗御。

构成生物屏障的关键微生物需要达到一定的丰度才能行使功能,当病原微生物与屏障微生物比例失调时,病原微生物就会对屏障产生冲击作用^[9]。在青枯病突破的植物防御的三种屏障中,生物屏障是变化最大的一个屏障,也是我们最有可以实现调控的一个屏障。因为,就植物的物理屏障和化学屏障的构建来说,我们可以做的工作是有限的,但通过环境优化、有益菌添加、以及有机物质的增施就能够帮助植物构筑起强大的生物屏障^[10-11]。

3. 构建生物屏障防治植物病害的成效

土壤被认为是明显受微生物影响的活体系,土壤微生物的群落组成以及与栽培植物的关系,形成了重要的生物屏障,显著影响着根茎病害的发生。构建强大的生物屏障,形成健康的根际微生态是根茎病害绿色防控的重要手段。构建生物屏障防治植物病害的基本原理为:保护有益菌、增加有益菌、协调有益菌、抑制有害菌。

基于以上原理,西南大学烟草植保研究团队经过 5 年的努力,系统明确了地衣芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、荧光假单胞菌、多粘类芽孢杆菌、胶冻样芽孢杆菌和解磷解钾菌等细菌以及哈茨木霉、绿色木霉等真菌对植物抗青枯病的生物屏障的作用;枯草芽孢杆菌、哈茨木霉等对黑胫病有很好的拮抗作用。此外,荧光假单胞菌类和地衣芽孢杆菌类能够有效促进烟株生

长。在此基础上，该团队形成了具有壮苗、促根、抗病作用的微生物组，形成了苗强壮和根茎康两个商品生物屏障调理剂，用于构建烟株根际的生物屏障，取得了理想的效果。主要表现在以下几个方面：

3.1 在育苗过程中添加拮抗菌剂构建早期的生物屏障

在育苗基质添加微生物拮抗菌剂抢占植物根际生态位，首先表现为促进了苗子的健康生长和根系发育，而且还可以直接表现出抗病性，如添加假单胞菌后，烟草青枯病发病率较 CK 低 41.80%；添加地衣芽孢杆菌后烟草黑胫病发病率较 CK 低 26.67%；添加枯草芽孢杆菌后，烟草根腐病发病率较 CK 低 6.33%。

进一步深化研究形成有益微生物组（商品名：苗强壮，有效活菌数 ≥ 100 亿个/克）进行育苗基质添加，1 亩育苗基质中添加有效活菌数 ≥ 100 亿个/克的组合菌剂 100 克，烟苗的总体长势和抗病性能得到显著提升。2017 年在全国 7 个点示范应用 2.1 万亩，取得显著成效，得到用户的一致好评。

3.2 移栽过程中增施微生物菌剂巩固微生物定殖，强化生物屏障

西南大学烟草植保研究团队的研究结果表明，烟草移栽时窝施地衣芽孢杆菌类菌剂 1.5kg/亩、枯草芽孢杆菌类菌剂 10kg/亩对青枯病防治病害有较好效果，防治效果最终达到 75%，其次是胶冻样芽孢杆菌类菌剂 2.5kg/亩和解磷解钾菌类菌剂 10kg（菌剂含量标准按国家有关规定）。烟草移栽时窝施牡蛎壳粉 100 kg/亩+荧光假单胞杆菌 1 kg/亩，可将土壤 pH 由 5.49 提升至 6.00，调酸协同荧光假单胞菌施用后 30 天，烟株根际青枯菌量比对照降低 50% 以上，烟草青枯病防效达 61.39%。此外，窝施苗强壮微生物菌剂后进行移栽，也能达到强化根际生物屏障、抗御根茎病害发生的作用。

3.3 有机肥中添加拮抗菌剂，进一步强化生物屏障功能

有机肥增加土壤有机质含量，促进微生物繁殖，改善生物活性，有利于拮抗微生物定殖。窝施微生物菌肥在促进烤烟健康生长和病害防治上也有显著的作用。通过施用三炬微生物、沃益多、中农绿康三种微生物菌剂，结果表明，在生物学性状方面，菌肥对农艺性状方面都可以起促进生长作用，有利于烤烟的早生快发和后期株型的形成。在抗病性方面，三种菌肥对气候斑点病影响不大，对烟草赤星病和白粉病均有一定的防治效果。西南大学烟草植保研究团队和北京恩格兰公司联合攻关，经过多年的研究形成了调控根际微生态、抑制根茎病害的复合生物菌剂（商品名：根茎康，有效活菌数 ≥ 30 亿个/克），每 100 公斤已经发酵好的有机肥添加 1 公斤的混合菌剂，青枯病的发病时间推迟 15 d 以上；发病率降低 70%以上，去除成本每亩增收 800 元左右。2018 年在巫山、酉阳、黔江等地应用 4.5 万亩，取得了明显

成效，对保障烟草健康发挥了重要作用。

生物屏障是最近几年才形成的植物健康保障的新概念和新理论。其理论的完善和创新与植物微生态理论密切相关，微生物组学及功能微生物的研究可以更好地丰富和完善这一理论体系。在植物健康维护以及植物医学的实践体系上，通过研发促进生物屏障构建和完善的新技术和新产品，并与植物健康调控、土壤健康维护、生态环境保护等相协调，在植物医学和植物健康理论与实践创新上将给我们提供更广阔的用武之地！

参考文献

- [1] COOK R J. Advances in Plant Health Management in the Twentieth Century [J]. Annual Review of Phytopathology, 2000, 38(1):95-116.
- [2] 夏启中, 张明菊. 植物抗病的物质代谢基础 [J]. 黄冈职业技术学院学报, 2004, 6(3):38-41.
- [3] HARBORNE J B. Role of Secondary Metabolites in Chemical Defence Mechanisms in Plants [J]. Ciba Found Symp, 1990, 154:126-134, 135-139.
- [4] HACQUARD S, GARRIDO-OTER R, GONZALEZ A, et al. Microbiota and Host Nutrition across Plant and Animal Kingdoms [J]. Cell Host Microbe, 2015, 17 (5): 603-616.
- [5] BERENDSEN R L, PIETERSE C M, BAKKER P A. The Rhizosphere Microbiome and Plant Health [J]. Trends in Plant Science, 2012, 17 (8): 478-486.
- [6] 胡翔, 贺德. 肠黏膜生物屏障研究进展 [J]. 中国医学工程, 2010 ,18(2): 173-176.
- [7] 刘晓姣. 烟草根际抑病土壤有益微生物的组学特征及对青枯病的拮抗作用研究 [D]. 重庆:西南大学, 2018.
- [8] MAZZOLA M. Mechanisms of Natural Soil Suppressiveness to Soilborne Diseases [J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2002, 81 (1-4): 557-564.
- [9] 康白. 微生物学的崛起与观念革命[J]. 中国微生物学杂志, 1993(1):63-67.
- [10] SCHROTH M N, HANCOCK J G. Disease-Suppressive Soil and Root-Colonizing Bacteria [J]. Science, 1982, 216 (4553): 1376-1381.
- [11] PETERS R D, STURZ A V, CARTER M R, et al. Developing Disease-Suppressive Soils through Crop Rotation and Tillage Management Practices [J]. Soil and Tillage Research, 2003, 72 (2): 181-192.

（引自植物医生《生物屏障与植物健康》）