

根茎病害研究通讯

Communications in Plant Root and Stem Diseases Research

(2019 年第 3 期, 总第 73 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 3 月 31 日

工作动态

根茎病害绿色首席科学家丁伟教授前往多个烟叶生态区进行技术培训

2 月 22 日丁伟教授前往湖南湘西地区调研指导烟草根茎病害防控, 湘西是武陵山区根茎病害发生的代表性区域, 土壤酸化严重, 青枯病为主的根茎病害严重发生。此次调研, 丁伟教授系统的分析该地区根茎病害发生的原因, 并提出要坚持以微生态调控为核心, 调控四个平衡, 持续对土壤进行改良, 提高烟株抵抗力来降低根茎病害发生。

2 月 27 日, 丁伟教授前往凉山地区, 对各县地区人员进行绿色防控关键技术培训, 系统的介绍了烟草病虫害绿色防控十项主推技术。而针对凉山地区的烟叶生产情况, 丁教授提出要重点关注烟草自身的根际健康问题, 如苗床的烟苗培育、早生快发、中后期的抵抗力等问题, 并指出 2019 年要重点在凉山冕宁地区开展 3 万亩的基质拌菌技术, 提高烟苗质量与抗病性。

3 月 15-16 日 丁伟教授前往河南郑州与南阳地区进行绿色防控技术培训会。分别针对烟草生产过程中的健康栽培与病害的绿色防控技术进行了培训, 培训会上丁伟教授重点讲解了烟草健康的几个关键指标: 生育期、发育、抵抗力、品质, 并重点分析了当前烟草健康的维护策略, 推进绿色生态防控的关键关注点。

3 月 13 日-14 日丁伟教授前往陕西地区开展烟草绿色防控技术培训会, 主要针对烟草三虫三病的绿色防控十大关键技术进行系统培训。



图 1 丁伟教授在湖南湘西地区调研



图 2 丁伟教授在四川凉山进行技术培训



图 3 丁伟教授在河南进行技术培训



图 4 丁伟教授在陕西进行技术培训

（李石力 供稿）

项目组成员前往各烟草生态区推进技术与物资落地

3月11日，研究室成员前往宜宾落实2019年“烟草根际健康微生态调控关键技术研究及应用”项目前期的示范与小区试验工作。项目组成员李石力博士，姬佳旗与武霖通硕士研究生一并前往宜宾兴文周家烟草基地单元进行项目对接，向烟站技术人员等相关负责人介绍了2019年宜宾地区的主要工作内容，以及示范区的关键控制技术与配套物资。通过调研确定了试验示范区域，明确了负责人员以及工作内容，为下步工作顺利开展奠定了基础。

3月16日，研究室成员黄阔前往四川会理基地单元，落实100亩根茎病害绿色防控示范区建设工作。目前开展研究的材料和药剂已经进行汇总，将会陆续发放，示范区已经全部范围完成起垄打窝工作。会理地区将于四月中旬开始移栽，届时驻点人员将会提早到达，开展2019年基地工作。

3月13日-16日，应项目《四川泸州烟草根茎病害及根际健康微生态调控关键技术研究及应用》要求，研究室成员杨会款前往泸州市古蔺县双沙镇庆丰村落示范园区起垄过程中微生物菌剂和碱性肥料的增施工作。此次在双沙基地起垄过程中增施微生物菌剂和碱性肥料旨在调节土壤微生物和酸碱度平衡，为双沙基地烟草的健康生长和病害防治奠定基础。

3月25日，硕士研究生韩松庭赴遵义市正安县开展2019年国家烟草专卖局绿色防控重

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》项目研究基地起垄工作。通过项目组与烟草公司的深入对接，圆满完成了示范区起垄、试验地选择等工作，切实保障了2019年示范研究工作的顺利开展。



图 5 四川宜宾文周家烟草基地



图 6 四川凉山会理烟草基地



图 7 四川泸州双沙烟草基地



图 8 贵州遵义正安烟草基地

（刘晓姣 整理）

基础研究

有益微生物在抑病土壤中抑病能力研究

抑病型土壤（disease suppressive soil）中起关键抑病性作用的是土壤微生物组与植物之间的互动。抑病型土壤根据其土壤微生物表现的抑病机制可分为普通抑病型（general disease suppressiveness）和特异抑病型（specific disease suppressiveness）。普通抑病性主要依靠土壤环境中整体的微观和宏观生物区系提升土壤整体的抗病性；而特异抑病性是在普通抑病性的基础上，由于某些土壤中的微生物种类异常丰富，并且这些微生物能抑制病原菌生长数量和（或）阻碍其对寄主植物侵入普通和特异型土壤的抑病性均能通过灭菌处理使其丧失抑病性，但是只有特异抑病型土壤的抑病性能通过其中的某类微生物进行转移，因而可转移性是特异抑病型土壤的主要特征。

本试验研究在发病土壤中接种一定量的巫山抑病土壤后，如果发病土壤的抑病能力有所

提升，则巫山抑病土壤为特异抑病型土壤，其抑病能力主要来源于某类微生物的功能作用；如果发病土壤的抑病能力并没有得到提升，则巫山抑病土壤为普通抑病型土壤，其抑病能力主要来源于整体微生物群落的竞争能力。在发病土中分别混合 5%、10%、15%、20% 的巫山抑病土后，对发病土的发病率和病情指数有明显的减缓。在烟苗移栽的第 11 天，混合了 20% 巫山抑病土壤的发病土在外源添加了 10^7 cfu/mL 青枯菌悬液后，其发病率为 41.47%，病情指数为 10.94，是没有添加抑病土处理发病率的 1/2、病情指数的 1/3，在各处理中最低。此外，混合了抑病土的青枯菌含量均低于未添加抑病土的处理，以混合 5% 巫山抑病土的处理青枯菌含量最低（= 4.05），混合 10% 的处理次之（= 4.26），两者均显著低于未添加抑病土的处理。说明巫山抑病土壤微生物能通过与发病土壤混合后减少烟草根际土壤中的青枯病原菌数量。

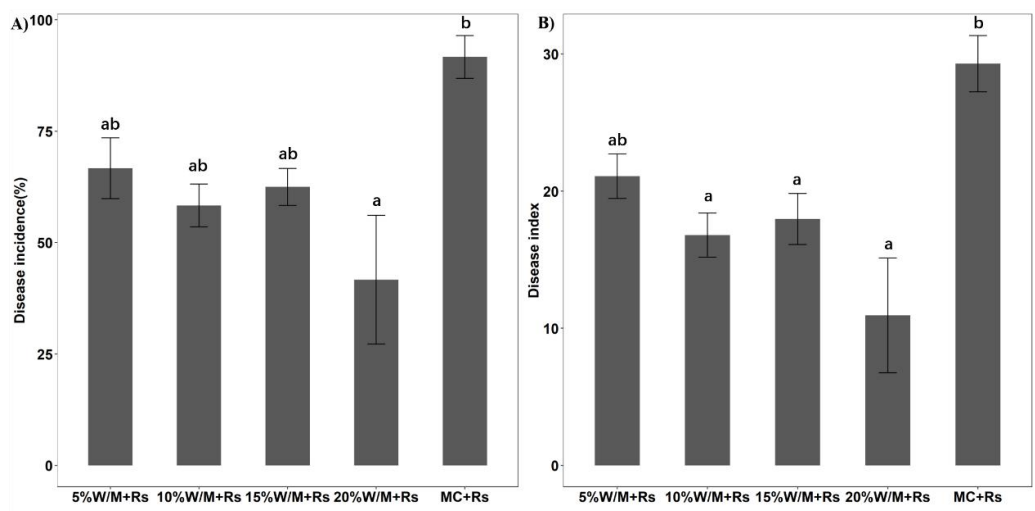


图 9 抑病/发病土壤混合后移栽烟草第 11 天的青枯病发病率 (A) 和病情指数 (B)

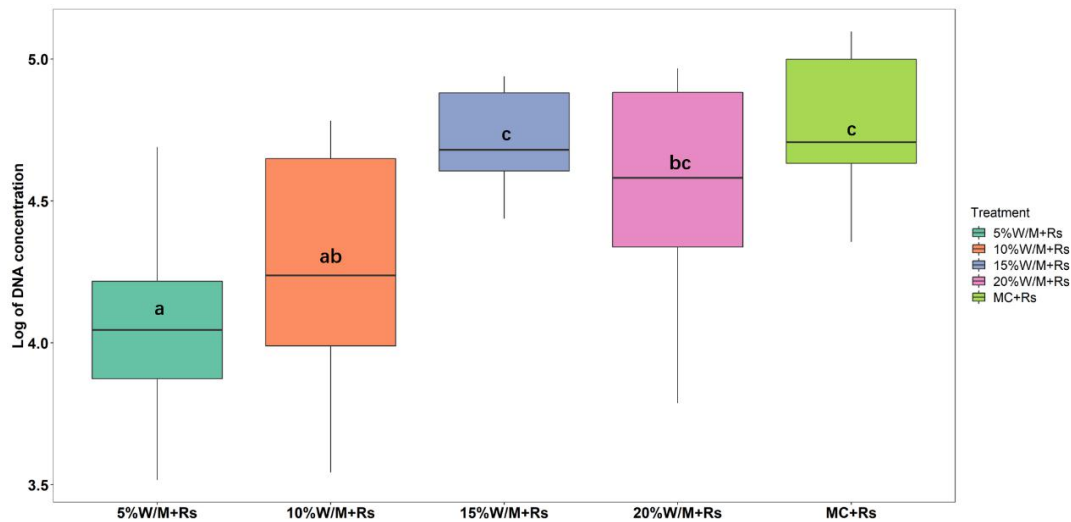


图 10 抑病/发病混合后栽种的烟草根际土壤中青枯雷尔氏菌的相对定量

(刘晓姣 供稿)

植物内生真菌在维护植物健康上的作用

植物内生真菌 (Endophyte)^[1] 寄生于健康植物内,但并不使寄主植物表现症状,这些真菌在植物体内部或植物胞间度过全部或近乎全部生活史。广义的内生真菌是一个很大的类群,包括诸如菌根真菌、营表生腐生菌、对宿主暂时没有伤害的潜伏性病原菌等。现阶段,多数学者在研究中提出了狭义的植物内生真菌 (Endophytic fungi) 概念^[2],即不引起植物明显病害症状,但在地上部有生命力的植物体内生活的真菌。在研究历史上,整个真菌学科对植物内生真菌的研究报道较少,是一类有待了解研究的真菌。1898年,Vogl^[3]在黑麦草(*Lolium temulentum* L.)种子中分离到一株真菌,证明了其寄生但不致病的特点,是首次记载有内生真菌的报道。1924年,有科学家首次从禾本科的植物叶片中证实了禾本科作物内生真菌的存在,此后,对内生真菌的研究报道几乎为零。20多年前,人们对紫杉醇的热切渴望导致红豆杉几近灭绝,但仍满足不了需求;直到美国科学家 Stierle^[4]在研究中分离到一株来自短叶红豆杉韧皮部的,并且可以产生紫杉醇的内生真菌——安德氏紫杉霉(*Taxomyces andreanae*),解决了紫杉醇的需求问题,对植物内生真菌的研究才又开始活跃起来。

内生真菌与寄主植物所形成的互利共生的关系,是通过长期协同进化发展而来的。这些内生真菌以吸收寄主植物的营养物质来完成自身生活史;与此同时,内生真菌在一些植物的生长以及进化过程中起着至关重要的作用^[5],如产生能刺激植物生长的代谢物,提高植物面对生物、非生物胁迫时的抗性等。最近的报道称^[5],植物内生真菌所产生的代谢产物具有独特的作用,在诸如农作物病虫害防治、医学上的抗癌药物等都有应用,使内生真菌的用途和应用领域逐渐扩大。内生真菌在实际应用上也具有诸多优势,如多样性丰富、数量庞大、可产生具有广泛应用价值的活性物质等,因此引起了人们的广泛关注。

1 植物内生真菌的潜在价值

1.1 植物内生真菌的生物研究价值

迄今为止,所研究的数百种植物,包括苔藓植物和蕨类植物,都已证实其中含有内生真菌^[6]。由此可见,内生真菌在植物体内是普遍存在的,是真菌生物多样性的的重要组成部分。纵览已发现的内生真菌,可见其多属于子囊菌亚门和半知菌亚门,少数内生真菌属担子菌亚门,包括核菌纲、腔菌纲和盘菌纲;有报道称^[7]还从植物体内分离出接合菌亚门的真菌。

内生真菌在植物体内也分布很广泛^[8],如植物种子、花、茎、叶和根等器官组织均有分布;但分布较多的通常还是在植物的叶鞘以及种子中,而在植物叶片以及根系中分布不多。内生真菌的传播主要通过两种形式^[9],其可通过菌丝得伸长生长进入植物生殖器官中,使种子携带菌种,然后通过植物种子继代传播;同时,内生真菌也具有真菌的繁殖特性,可以通过产生孢子,经风、雨水、人为活动等途径进行传播。

目前的研究多集中于药用植物内生真菌。以产生紫杉醇的真菌为例^[10]，产生紫杉醇的真菌不单单局限于短叶红豆杉一种植物，从一些不同种的植物中也分离到了可产生紫杉醇的内生真菌，且产紫杉醇的真菌种类比植物种类还要丰富，如可产生紫杉醇和多种抗菌物质的内生拟盘多毛孢，现已鉴定出 23 种，在红豆杉、椰子、红树等植物中均有发现^[6]。据报道^[5]，内生真菌与宿主专一性分析表明，每种寄主中平均含有 4~6 种内生真菌；现如今，地球上已知的植物种类接近 25 万之多，那么内生真菌就可能达到 100 多万种的数量，将是一个及其庞大的类群。

1.2 植物内生真菌次生物质的应用价值

协同进化理论(co-evolution)表明，内生真菌与其宿主植物在长期协同共生中相互影响，内生真菌在很大程度上可能具有与宿主植物有着一样的代谢途径，在分泌次生代谢产物上有着共性。已有研究发现^[11]，在协同进化过程中，内生真菌在与寄主植物发生了基因重组，获得了宿主植物的某些基因，从而具有产生与宿主植物相同的代谢产物的能力。我国有 10 000 余种药用植物^[12]，如果按照协同演化理论来选择，内生真菌的次生代谢物质很可能比寄主植物所产生的代谢物质相当，如果再加上自身本身所具有的产物，其次生代谢物质可能更多。同时，内生真菌也可能产生一些抗病抗虫物质，这是植物在长期抵御病原菌及害虫上所产生的，将是研究内生真菌作为生防因子的巨大资源。虽然内生真菌具有巨大的潜在价值，但迄今为止，从内生真菌中得到的生物活性物质有很多都前所未知，有 51%之多^[13]；然而，有报道称^[13]，在土壤微生物的代谢产物中只能得到 38%的活性物质，与之相比，内生真菌所产生的次生活性物质明显较多。以上种种足以说明内生真菌次生代谢产物具有广泛的多样性，具有广阔的潜在应用价值。

2 植物内生真菌对植物健康的影响

有研究认为^[14]，内生真菌可通过自身代谢产物以及自身信号传导对植物体产生多种影响。现阶段研究表明^[15]，内生真菌在维护寄主植物健康上有许多有益作用，如保护寄主免受病虫害侵染，协助植物固氮，分泌植物生长激素促进生长，增强寄主逆境胁迫抗性，抵抗动物取食寄主，以及增强寄主抗性等。

2.1 抗病作用

内生真菌的次生代谢产物可有效的抑制病原菌生长。兰琪等^[16]分离得到来自苦皮藤(*Celastrus angulatus*)植物中的 3 株内生真菌，经培养发酵后，所得产物的丙酮提取物在抑制玉米小斑病菌、小麦赤霉病菌、烟草赤星病菌、番茄灰霉病菌和苹果炭疽病菌的菌丝生长上均效果显著。在盆栽试验中，这些活性物质对小麦白粉病的治疗作用优良，防效可达 60% 以上。与此同时，内生真菌发酵产物对防治黄瓜霜霉病的防效也可达 50% 以上；对番茄灰霉病菌菌丝生长的相对抑制率达到了 92.7%，抑制效果卓越。Strobel 等^[17]分离到一株来自于雷公藤的内生真菌，经分离培养和液体发酵后，从发酵产物中分离到一种生物碱，该生物碱在抑制稻瘟病菌(*Pyricularia oryzae*) 生长上具有优异的生物活性。

除此之外，一些植物的内生真菌可作为拮抗菌^[18]，保护寄主植物免受病原菌侵染，如健康甘薯中存在无致病力的尖孢镰刀菌，分离并接种到甘薯苗后，对甘薯萎蔫镰刀菌的侵染具有较强的控制作用；这种现象在葫芦科植物中也有发生，葫芦科作物微管束的尖孢镰刀菌也具有抵御致病性萎蔫镰刀菌的作用。

目前，内生真菌提高植物抗病性的机制^[18]大致可分为几个方面，如产生具有拮抗活性的物质（植保素、双萜类抗生物质、木质素等）、诱导寄主产生抗性相关酶类（几丁质酶、过氧化物酶等）以及诱导寄主植物抗病基因表达等。但内生真菌在影响寄主植物防御相关的酶系活性上的机制还尚不明确。

2.2 抗虫作用

有研究表明^[18]，植物内生真菌具有产生多种生物碱以及真菌毒素的能力，如产生覃青毒素、黑麦草碱、麦草碱和波胺等。这些次生代谢物能提高植物对多种昆虫的抗性，这主要是通过其产生的次生代谢产物能降低宿主植物的对食草动物的适口性或对昆虫具有毒性来实现的。JU 等^[19]从一种早熟禾中分离到一株内生真菌，可以产生黄酮类化合物，对蚊子幼虫有很高的毒性，可作为潜在的杀蚊剂。兰琪等^[14]在苦皮藤内得到的内生真菌，用其发酵产物的丙酮提取物饲喂 3 龄粘虫，经 24 h 后，粘虫死亡率可达 85.3%，具有强烈的毒杀作用。

2.3 抗逆境作用

一些内生真菌具有增强寄主对外界环境条件等非生物因素的抗逆性，以提高植物适应外部环境的能力。Arachevaleta 等^[20]在温室观察的结果，证明内生真菌可以提高高羊茅的耐旱性。内生真菌可以提高植物耐旱能力的机理可能是由于其促进根的发育、增加叶的生长、调节气孔的闭合。

2.4 生长调节作用

许多内生真菌可以促进植物的营养生长^[21]，主要包括增加植株分蘖数以及生物量两个方面。有报道称^[21]，高羊茅所产生的分蘖数及生物量受其内生真菌的影响，具有内生真菌的植株在这两方面均高于无内生真菌的植株。内生真菌促进植物生长的机制有多种多样^[22]，如提高植物对氮素等营养物质的利用率、产生植物激素类物质促进生长、提高谷氨酰胺合成酶活性以及增加寄主植物可溶性氨基酸总量等。

3 植物内生真菌在维护植物健康上的作用机理及研究展望

在基础研究上，尽管对植物内生菌的了解越来越多，但内生真菌在植物面对生物和非生物胁迫诱导产生的免疫应答时机理仍未完全了解。根据研究结果，目前已知的内生真菌在维护植物健康上的作用机理可归纳为几个方面^[23]：内生真菌最初被植物的免疫系统鉴别为病原体，通过分泌抗菌代谢物，形成特殊的物理化学屏障，结果使寄主获得复杂的组成型防御；此外，内生真菌产生的抗病虫活性产物对病虫害具有直接作用，其所产生的植物激素也被认为是调节对生物和非生物胁迫的反应的重要因子，可能在植物免疫应答中广泛存在。

内生真菌在保护植物免受伤害上的研究和应用方面仍存在一些值得关注的问题。在自然界中,植物经常面临多种生物和非生物胁迫,而不是同时面临单一的压力^[24],这些综合胁迫对植物健康产生更复杂的影响,这就需要用进一步的实验来解决内生真菌在多种胁迫下的调控植物健康的作用;这些结果将有助于了解在不同健康胁迫的压力下植物内生真菌在维护植物健康上的持续适应性问题。在实际应用上,一种内生真菌可能只有在一种作物中才能发挥保护作用^[25],但在离体或接种到另一种作物上时就丧失了其作为有益菌的功能,导致效果的不稳定;其次,一些内生真菌只有在特定的生态条件下才能发挥作用,地域环境的差异也会影响其在维护植物健康上的效果。这就需要在植物内生微生态等多因子角度去探索并研究问题。

无论在医药还是农药上,人们都意识到以往化学合成的药物所带来的毒副作用^[26],不利于植物健康的可持续性维护。微生物易培养、易控制、生长迅速,其应用前景不言而喻,无论抗疟疾的青蒿素,还是作为杀螨杀菌剂的香豆素类化合物,如果能找到可以产生类似物的内生真菌,在产量上将大大提高,也会大大降低病原菌或害虫产生抗药性的风险。总的来说,植物内生真菌在维护植物健康上有其独特的作用,是构建植物“生物屏障”的关键因子之一,在维护植物健康上有广阔的前景。

参考文献

- [1] 杨润亚,冯培勇,李清.植物内生真菌农药活性的研究进展[J].农药,2006,45(7):440-444.
- [2] 唐雪辉,毛凯,于友民,等.植物内生真菌的应用研究概况[J].草原与草坪,2005(5):16-21.
- [3] 郭良栋.内生真菌研究进展[J].菌物系统,2001,20(1):148-152.
- [4] STIERLE A, STROBEL G. Taxol and Taxane Production by *Taxomyces Andreanae*, An Endophytic Fungus of Pacific Yew[J]. Science, 1993, 260(5105): 214-216.
- [5] 官珊,钟国华,孙之潭,等.植物内生真菌的研究进展[J].仲恺农业技术学院学报,2005,18(1):61-66.
- [6] 刘蕴哲,何劲,张杰,等.植物内生真菌及其活性代谢产物研究进展[J].菌物研究,2005,3(4):30-36.
- [7] 任安芝,高玉葆.植物内生真菌:一类应用前景广阔的资源微生物[J].微生物学通报,2001,28(6):90-93.
- [8] CARROL G. Fungal Endophytes in Stems and Leaves: from Latent Pathogen to Mutualistic Symbiont[J]. Ecology, 1998, 69(1): 2-9.
- [9] 李明.植物内生真菌[J].生物学教学,2003,28(5):1-3.
- [10] 韦继光,徐同.植物内生拟盘多毛孢的生物多样性[J].生物多样性,2003,11(2):

162-168.

- [11] 邹文欣, 谭仁祥. 植物内生菌的生物与次生产物多样性及其潜在应用价值[A].植物科学研究进展(第2版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1999: 183-190.
- [12] 张惠源, 赵润怀, 袁昌齐, 等. 我国的中药资源种类[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(7): 387-390.
- [13] STROBEL G A. Endophytes as Sources of Bioactive Products[J]. Microbes and Infection, 2003, 5(6): 535 -544.
- [14] 杨海莲, 孙晓璐, 宋未. 植物内生细菌的研究[J].微生物学通报, 1998, 25(4): 224-227.
- [15] ZOU WenXin, TAN RenXiang. Recent Advances on Endophyte Research[J]. Acta Botanica Sinica, 2001, 43(9): 881-892.
- [16] 兰琪. 苦皮藤内生真菌中杀虫杀菌活性物质的初步研究[D]. 西安杨凌: 西北农林科技大学, 2002.
- [17] STROBEL G A, TORCZYNSKI R, BOLLON A. Acremonium sp.-a Leucinostatin A Producing Endophyte of European Yew(*Taxus baccata*)[J]. Plant Science, 1997, 128(1): 97-108.
- [18] 何美仙. 植物内生真菌作为生防因子的研究进展[J]. 植物保护, 2005, 31(1): 10-14.
- [19] JU Yong, SACALIA J N, STILL C C. Bioactive Flavonoids from Endophyte-infected Blue Grass(*Poa Ampla*)[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(9): 3785-3788.
- [20] ARACHEVALETA M , BACON C W, HOVELAND C S. Effect of the Tall Fescue Endophyte on Plant Response to Environmental Stress[J]. Agronomy Journal, 1989, 81(1): 83-90.
- [21] LYONS P C, EVANS J J, BACON C W. Effects of the Fungal Endophytic Acremonium Coenophialum on Nitrogen Accumulation and Metabolism in Tall Fescue[J]. Plant Physiology, 1990, 92(3): 726-732.
- [22] PORTER J K, BACON C W, CUTLER H G, et al. In Vitro Production of Auxin by Balansia Epichloe[J]. Phytochemistry, 1985,24(7): 1429-1431.
- [23] YAN Lu, ZHU Jing, ZHAN XiXi, et al. Beneficial Effects of Endophytic Fungi Colonization on Plants[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019: 1-14.
- [24] SAIKKONEN K , WALI P , HELANDER M, et al. Evolution of Endophyte-plant Symbioses[J]. Plant Science, 2004, 9(6): 275-280.
- [25] 徐萌, 郭晴雪, 杨茉, 等. 植物内生真菌的多样性及应用[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(15): 15-17, 74.
- [26] 任爱梅, 张丽珂, 孟宪刚. 植物内生真菌研究进展与存在问题[J]. 广东农业科学, 2010, (2): 103-106.

(引自植物医生《植物内生真菌在维护植物健康上的作用》)