根茎病害研究通讯

Communications in Plant Root and Stem Diseases Research

（2019 年第 6 期，总第 77 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 6 月 30 日

工作动态

丁伟教授赴武汉参加国家局绿色防控重大专项项目启动会

2019 年 6 月 4 日，中国烟草总公司绿色防控重大专项“微生物群落影响烟草青枯病/黑胫病发生的机制及调控技术研究”项目启动会在湖北省武汉市隆重召开，项目主要承担单位代表齐聚一堂，共同商讨项目开展方案。本次项目启动会由湖北省烟草科学研究院主持，西南大学丁伟教授、江其朋，湖北省烟草科学院李锡宏主任、黎妍妍、许汝冰，湖北省烟草公司科技处主任高加明，四川省烟草公司凉山州公司王勇，云南省烟草公司玉溪市公司谷星慧，贵州省烟草公司遵义市公司王军、黄纯样，湖北省烟草公司恩施州公司任晓红受邀参加了本次启动会。

本次启动会由湖北省烟草科学院李锡宏主任主持，会议首先邀请了湖北省烟草科学研究院副院长王昌军致欢迎词，王昌军副院长首先对各位参会人员的到来表示欢迎，对该项目的重大意义表示肯定，并表示湖北省烟草科学院将不遗余力支持该项目的开展，最后，王昌军副院长表示希望各项目承担单位和参会代表大家以后常来湖北交流指导工作。随后，丁伟教授对该项目的具体情况作了详细介绍，丁伟教授分别从立项背景、主要研究内容、考核指标及年度开展计划方案等方面进行了详细的讲述。随后，各项目参与单位代表分别就各自单位目前已有的研究基础以及实施过程中可能存在的问题进行了交流，并就项目下一步的实施达成了统一意见。会议的最后，湖北省烟草公司科技处高加明主任作了会议小结，他表示，本次项目启动会极大的促进了各参与单位间的交流，在各个单位的共同努力下，该项目一定能顺利开展并取得关键突破。

通过本次项目启动会，各参与单位进一步明确了各自任务和工作重点，为今后项目工作的顺利开展奠定了良好的基础！

图 1 湖北省烟草科学研究院副院长王昌军发言

图 2 丁伟教授项目内容介绍

（江其朋 供稿）

基础研究

新型纳米抗菌剂--纳米氧化铜有效防控烟草青枯病

西南大学丁伟教授团队在纳米技术在植物病害防控方面取得重要进展，成果以题“Various antibacterial mechanisms of biosynthesized copper oxide nanoparticles against soilborne *Ralstonia solanacearum*”发表在国际学术期刊《Molecules》（IF = 3.049）。

烟草青枯菌引起的烟草青枯病是典型的土传性维管束病害，可侵染危害 100 多种作物，给烟叶生产造成巨大的经济损失。目前，防治烟草青枯病最为快速和有效的手段仍然以化学药剂防治为主，但由于药剂长期使用，且防治药剂作用位点单一，烟草青枯菌极容易产生抗药性。运用纳米材料卓越的抗菌性能研究其对病原菌的毒性作用为我们提供了新的研究思路。由于纳米颗粒能有非特异性的作用在病原菌细胞膜上，引起膜的破坏，诱导病原物生命体产生过量的相对活性氧（ROS），因此病原菌很难产生抗药性。

纳米氧化铜（CuO NPs）具有很强的毒性，且化学性质稳定，成本相对较低，它的高效抗菌性及其应用是目前的的研究热点之一。截至目前，CuO NPs 主要研究对象多为食品源病原细菌，而对植物病原菌的研究报道还比较少，特别是对土传病原菌的研究尚未报道。因此，开展 CuO NPs 对烟草青枯菌的抑菌作用研究，为减缓烟草青枯菌的抗性发展及对烟草青枯病的科学治理显得尤为重要。因此，该研究通过室内和室外试验相结合，系统性调查纳

米氧化铜对烟草青枯病的防控效果。结果发现 CuO NPs 显著性抑制青枯菌的菌落生长，当处理浓度为 250 mg/mL 时，青枯菌几乎全部被杀死，平板没有菌落生成。进一步地，CuO NPs 与青枯菌相互作用，通过且抑制青枯菌生物膜形成和泳动性，扰乱 ATP 的产生。通过透射电子显微镜(TEM)的超微结构观察发现， CuONPs 与细菌相互作用后，细菌细胞受到纳米物理性的损伤，细胞膜破损，且伴有多个纳米颗粒的吸收。此外，分子研究发现了一系列涉及致病性和运动性的基因下调的作用机制。那么，CuONPs 在实际中抗菌性应用效果如何呢？采用盆栽试验，利用灌根法对接种烟苗进行 CuONPs 处理，验证了 CuONPs 可以显著降低了烟草青枯病的发病率和病情指数。这项研究旨在在开发生物合成纳米颗粒作为土传病害的新型抗菌剂，具有重要的理论意义。

西南大学陈娟妮讲师为论文第一作者，丁伟教授为论文通讯作者。研究得到了烟草绿色防控重大专项的支持。

论文链接： https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2019/ra/c8ra09186b

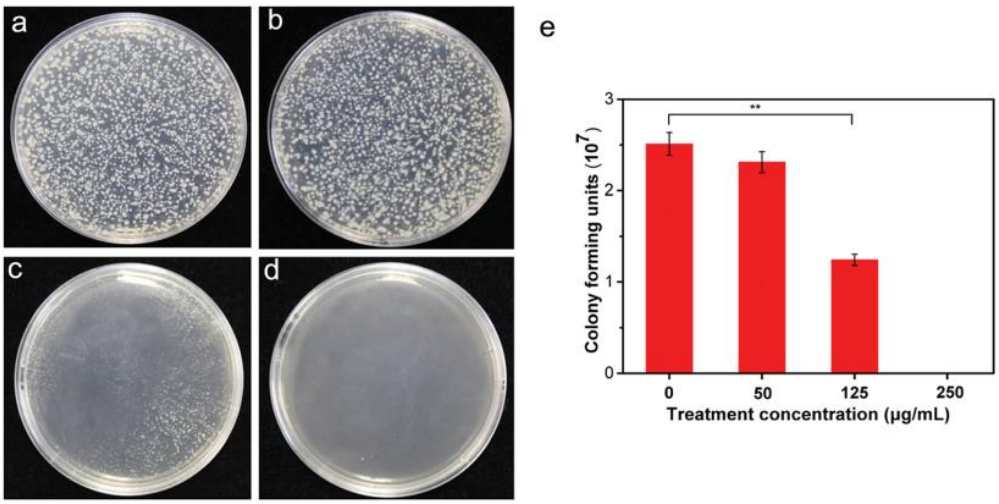

图 1 CuO NPs 对青枯菌菌落生长的影响

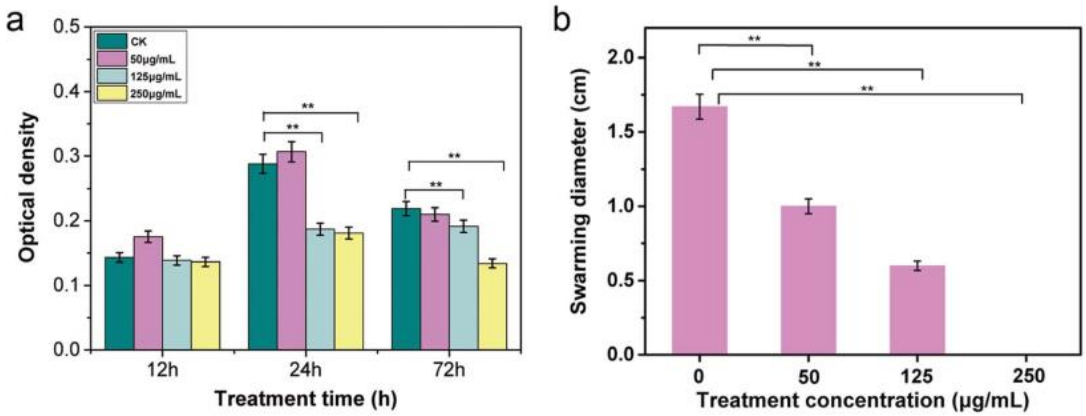

图 2 CuONPs 对青枯菌生物膜和泳动性的影响

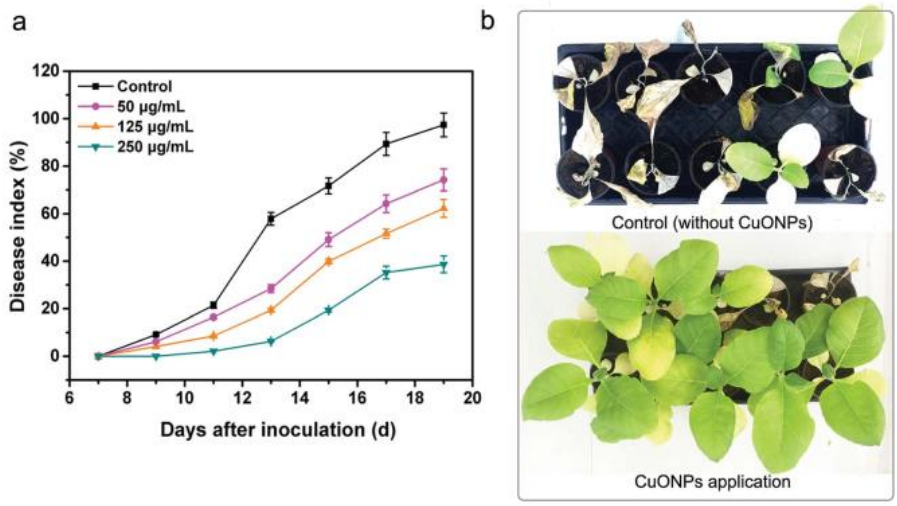

图 3 不同浓度 CuO NPs 处理后烟草青枯病的病情指数和盆栽防控效果观察

供稿人：陈娟妮

哈茨木霉诱导烟草抗青枯病的机制研究

木霉是目前生物防治上研究的热点生防因子之一，因其优良的生防效果已经在许多国家得到了大量的应用。目前国内外对木霉的研究机制也较为全面，木霉的主要生防机制主要包括，竞争作用、抗生作用、诱导抗性作用等。*Hypocrea lixii* TMN-1 是实验室通过采集植烟区健康土壤筛选分离的到的一株木霉菌株，初期的室内盆栽实验结果显示，TMN-1 菌株对防治烟草青枯病具有较好的生防效果，于是，继续对 TMN-1 菌株对防控烟草青枯病的机制进行探究，实验结果显示：灌根木霉孢子悬浮液后 4 天，处理后的烟草叶片内 PAL 酶活力呈逐渐上升的趋势，清水对照叶片内 PAL 酶活没有显著的变化，相较于对照组第三天时和第四天时，处理组相较于对照组 PAL 酶活显著高出 3.09 倍，和 2.16 倍。

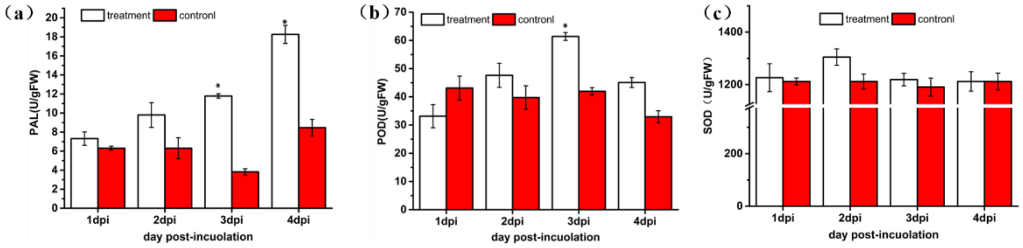

图 1 哈茨木霉 TMN-1 对烟草防御酶活力的影响

对烟草叶片内的 POD 酶活检测发现，灌根使用木霉烟草叶片内 POD 酶活力在第三天时达到峰值，对照组 POD 活力为 61.39U/g.FW，同时期对照组为 41.96 U/g.FW，为对照组的 1.46 倍。在 5%的水平上具有显著性差异。对叶片中 SOD 酶活检测发现，处理后不会引起烟草叶片内 SOD 酶活力的变化。

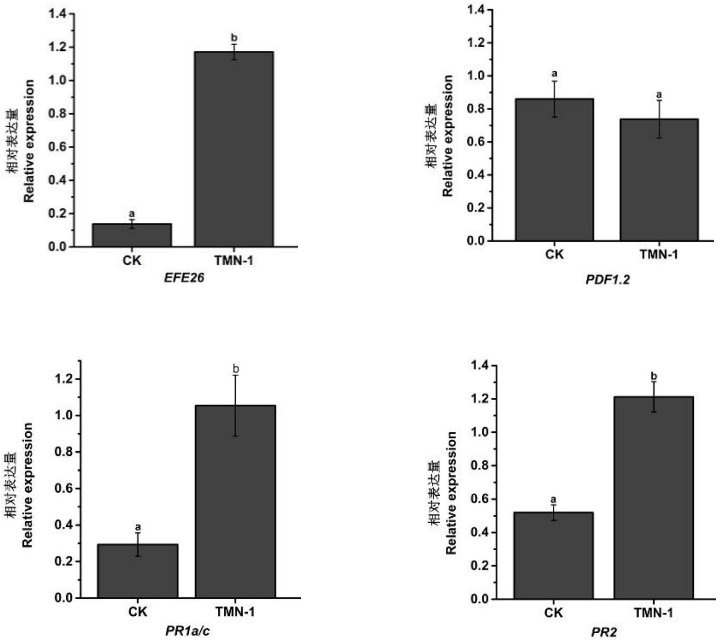

图 2 木霉处理后对烟草叶片内抗性基因表达的影响

对烟草叶片内相关抗病基因表达的检测结果发现，木霉 TMN-1 菌株处理后，烟草叶片内水杨酸 SA 途径相关抗性基因 PR1a/c，PR2 表达较对照显著上调 3.60 倍和 2.34 倍；乙烯途径关键基因 EFE26 表达显著上调达 8.52 倍。对茉莉酸途径相关的关键基因 PDF1.2 的相对表达量检测发现，茉莉酸途径的关键基因无显著上调表达。

供稿人：朱洪江

理论前沿

金属纳米粒子的广谱抗菌性的潜在应用

纳米颗粒（Nanoparticles，NPs）是指至少在一个维空间中，其尺寸介于 1~100 nm 范围内的一类材料[1]。纳米材料主要分为三个大类，即包括自然存在的、无意间发现的和工程纳米材料[2]。金属纳米材料（Metal Nanoparticles, MNPs）是其中研究较多和应用比较广泛的一类工程纳米材料。

目前，广泛用于抗病原微生物的金属纳米粒子 有 CuO、Ag 和 ZnO 以及其它无机材料（金属和氧化物）。大量的研究表明，这些材料对酵母[3]、藻类 4]、细菌[5]甚至病毒[6]在内的各种微生物具有一定毒性。

（1）铜基纳米颗粒

铜基纳米材料是研究较为广泛的一类金属纳米材料。由于其对病原微生物的作用位点多样，有别于传统的作用位点单一的铜制剂杀菌剂。许多研究报道了 Cu、CuO 以及 Cu_2O 纳米粒子对微生物病原菌的影响。Ouda[7]分别评价了 Cu 纳米粒子、Ag 纳米粒子和 Ag 负载在 Cu 纳米粒子上的复合物对烟草赤星病病菌（*Alternaria alternata*）和灰霉菌（*Botrytis cinerea*）具有抗菌活性。Kanhed 等人[8]报道了 Cu 纳米粒子的抗菌活性优于市售杀真菌剂多菌灵（Bavistin）对植物病原真菌尖孢镰刀菌（*Fusarium oxysporum*），新月弯孢菌（*Curvularia lunata*），烟草赤星病病菌（*Alternaria alternata*）和番茄圆纹病病菌（*Phoma destructiva*）的活性。进一步证明了 Cu NPs 可用作独特的抗真菌剂，在农业中控制植物病原真菌发挥作用。Mahapatra 等人[9]研究了 CuO NPs 的广谱抗菌特性，这些纳米颗粒进入细胞内并与细胞内的重要酶形成稳定的复合物，这阻碍了细胞功能导致其死亡，因此病原菌很难产出抗药性。总之，作为过渡金属元素的铜及其纳米颗粒逐渐成为了抗菌材料研究的热点。

（2）银纳米颗粒

银纳米粒子（Ag NPs）是一种重要的抗菌材料，显示出强烈的抗菌，抗真菌和抗肿瘤活性。由于其优异的抗菌活性和理想的物理化学性质，Ag NPs 目前被广泛研究用于各种行业，包括医药，诊断，化妆品和食品加工。另外，Ag NPs 对革兰氏阳性和革兰氏阴性细菌（包括多重耐药菌株）表现出非常强的杀菌活性，可被视为潜在的抗真菌剂[10]。Aleš Panáček 等人[11]研究表明 Ag NPs（1 mg/L）对抗致病性念珠菌属（*Candida spp.*）具有高抗真菌活性。Ali 等人[12]测定了 10 mg/L 的 Ag NPs 对疫霉属（包括 7 种疫霉菌）的抗真菌活性，有效（100％）抑制菌丝生长、游动孢子萌发、胚芽管伸长和游动孢子产生。

（3）锌基纳米颗粒

氧化锌纳米粒子（ZnO NPs）是锌基纳米材料最为重要的一种材料。ZnO NPs 被充分证明是有效的抗微生物剂。He[13]研究发现，浓度大于 3 mmol/L 的 ZnO NPs 可显着抑制灰霉菌（*B.cinerea*）和扩展青霉（*Penicillium expansum*）的生长；Jamdagni[14]测定了 ZnO NPs 的抗真菌潜力，发现它对所有五种测试的植物病原体都有活性，最低 MIC 值记录为 16 μg/mL；Sirelkhatim 等人[15]综述了 ZnO NPs 抗菌活性和毒性机制，指出 ROS 已经成为几种机制的主要因素，包括由于 ZnO 定位的相互作用导致的细胞壁损伤，增强的膜渗透性，由于质子动力的损失导致的纳米颗粒的内化和有毒溶解的锌离子的吸收。

（4）二氧化钛纳米颗粒

二氧化钛（TiO_2）由于其优异的化学和物理性质，已广泛应用于光催化体系、抗菌材料、自清洁涂料和太阳能电池等各个领域[16]。1985 年，Matsunaga 等人首先报道了 TiO_2 对微生物的光催化消毒作用[17]。自那时起 TiO_2 的光催化剂杀菌抗菌特性被广泛的研究报道，包括病毒、细菌、真菌、藻类和原生动物。Siddhartha 等人[18]针对两种强效植物病原体研究纯 Ag 纳米粒子和 Ag 负载（固体和空心）TiO_2 纳米粒子的抗真菌活性，结果表明 Ag 负载于空心的 TiO_2 有更强的抗菌活性。在可见光照射下，其对这两种植物病原体（腐皮镰刀菌 *Fusarium solani* 和苹果黑星病菌 *Venturia inaequalis*）的抗真菌活性进一步增强。

2.3 金属纳米材料抗菌机理及其影响因素

与有机抗菌剂相比，使用无机氧化物的主要优点是其稳定性，坚固性和长保质期[189]。其次，由于金属纳米材料具有重金属特性同时兼有卓越的物理化学性质，其对微生物的毒性很强。近年来，纳米材料已经应用到农业生产、植物保护等农业相关领域，成为农作物病害防治中的研究热点。一方面，纳米材料自身具有高效的抗菌性能，即通过物理机械损伤细胞结构同时产生 ROS，最终引起病原菌细胞死亡，使得病原菌很难产生抗药性[20]。另一方面，纳米材料还可诱导植物产生抗性[21]，并能够促进植物生长[22]等优点。

参考文献：

[1]. Klaine SJ, Fernandes TF, Handy RD, Lyon DY, Mahendra S, Mclaughun MJ, et al. NANOMATERIALS IN THE ENVIRONMENT: BEHAVIOR, FATE, BIOAVAILABILITY, AND EFFECTS[J]. Environmental Toxicology & Chemistry.2012,27(9):1825-1851.

[2]. Sui J, Hwang WC, Perez S, Ge W, Aird D, Chen LM, et al. Structural and functional bases for broad-spectrum neutralization of avian and human influenza A viruses[J]. Nature Structural & Molecular Biology.2009,16(3):265.

[3]. Kasemets K, Ivask ADubourguier HC, Kahru A. Toxicity of nanoparticles of ZnO, CuO and TiO2 to yeast Saccharomyces cerevisiae[J]. Toxicology in Vitro.2009,23(6):1116-1122.

[4]. Aruoja V, Dubourguier HC, Kasemets K, Kahru A. Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO 2 to microalgae Pseudokirchneriella subcapitata[J]. Science of the Total Environment.2009,407(4):1461-1468.

[5]. Anyaogu KC, Fedorov AV, Neckers DC. Synthesis, characterization, and antifouling potential of functionalized copper nanoparticles[J]. Langmuir.2008,24(8):4340-4346.

[6]. Borkow G, Zhou SS, Page T, Gabbay J. A novel anti-influenza copper oxide containing respiratory face mask[J]. Plos One.2010,5(6):e11295.

[7]. Ouda SM. Antifungal activity of silver and copper nanoparticles on two plant pathogens, Alternaria alternata and Botrytis cinerea[J]. Research Journal of Microbiology.2014:9(1): 34.

[8]. Kanhed P, Birla S, Gaikwad S, Gade A, Seabra AB, Rubilar O, et al. In vitro antifungal efficacy of copper nanoparticles against selected crop pathogenic fungi[J]. Materials Letters.2014,115(115):13-17.

[9]. Arunachalam KD. Ultrafine dispersed CuO nanoparticles and their antibacterial activity[J]. Journal of Experimental Nanoscience.2008,3(3):185-193.

[10]. Jose Ruben M, Jose Luis E, Alejandra C, Katherine H, Kouri JB, Jose Tapia R, et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles[J]. Nanotechnology.2005,16(10):2346-2353.

[11]. Panáček A, Kolář M, Večeřová R, Prucek R, Soukupová J, Kryštof V, et al. Antifungal activity of silver nanoparticles against Candida spp[J]. Biomaterials.2009,30(31):6333-6340.

[12]. Mohammad A, Bosung K, Belfield KD, David N, Mary B, Gul Shad A. Inhibition of Phytophthora parasitica and P. capsici by Silver Nanoparticles Synthesized Using Aqueous Extract of Artemisia absinthium[J]. Phytopathology.2015,105(9):1183-1190.

[13]. He L, Yang L, Mustapha A, Lin M. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against Botrytis cinerea and Penicillium expansum[J]. Microbiological Research.2011,166(3):207-215.

[14]. Jamdagni P, Khatri P, Rana JS. Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using flower extract of Nyctanthes arbor-tristis and their antifungal activity[J]. Journal of King Saud University - Science.2016,30(2):S1018364716303202.

[15]. Sirelkhatim A, Mahmud S, Seeni A, Kaus NHM, Ling CA, Bakhori SKM, et al. Review on

Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism[J]. Nano-Micro Letters.2015,7(3):219-242.

[16]. Liu B, Sun Y, Wang X, Zhang L, Wang D, Fu Z, et al. Branched hierarchical photoanode of anatase TiO2 nanotubes on rutile TiO2 nanorod arrays for efficient quantum dot-sensitized solar cells[J]. Journal of Materials Chemistry A.2015,3(8):4445-4452.

[17]. Liu B, Xue Y, Zhang J, Bing H, Jie Z, Suo X, et al. Visible-light-driven TiO2/Ag3PO4 heterostructures with enhanced antifungal activity against agricultural pathogenic fungi Fusarium graminearum and mechanism insight[J]. Environmental Science Nano.2016,4(1).

[18]. Boxi SS, Mukherjee K, Paria S. Ag doped hollow TiO2nanoparticles as an effective green fungicide againstFusarium solaniandVenturia inaequalisphytopathogens[J]. Nanotechnology.2016,27(8):085103.

[19]. Alpas H, Berkowicz SM, Ermakova I. Environmental Security and Ecoterrorism2011.

[20]. Yan L, Gu Z, Zhao Y. ChemInform Abstract: Chemical Mechanisms of the Toxicological Properties of Nanomaterials: Generation of Intracellular Reactive Oxygen Species[J]. Chemistry - An Asian Journal.2013,8(10):2342-2353.

[21]. Imada K, Sakai S, Kajihara H, Tanaka S, Ito S. Magnesium oxide nanoparticles induce systemic resistance in tomato against bacterial wilt disease[J]. Plant Pathology.2016,65(4):551-560.

[22]. Choudhary RC, Kumaraswamy RV, Kumari S, Sharma SS, Pal A, Raliya R, et al. Cu-chitosan nanoparticle boost defense responses and plant growth in maize (Zea mays L.)[J]. Sci Rep.2017,7(1):9754.

供稿人：陈娟妮