

姜细菌性青枯病病原菌及其防治研究进展

严金平¹, 泽桑梓², 张火云¹, 孙启玲^{1*}

(1 四川大学生命科学学院, 四川 成都 610064; 2 云南省林业科学研究院森林保护研究所)

摘要: 从病原菌及其防治措施两个层面综述了姜细菌性青枯病的研究进展, 包括生物型的划分、致病因子、传播途径、发病条件、检测方法, 化学和生物防治近况等, 并就此提出了一些可能的研究方向。

关键词: 姜; 细菌性青枯病; 防治

中图分类号: S632.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004—3268(2004)09—0063—03

姜既是一种调味品, 又是一种重要的中药材。传统中医理论认为姜对脘腹冷痛、呕吐泻泄、肢冷脉微、痰饮喘咳有很好的治疗作用, 国外的研究报道, 姜可以抑制体外肿瘤细胞的生长^[1]。姜在我国有很久的栽培历史, 品质优良, 是当前效益较高的创汇产品之一。姜青枯病也称姜瘟病, 是姜生产上最主要的病害, 是由青枯假单胞菌(*Ralstonia solanacearum*)引起的一种广泛分布于热带、亚热带及温带地区的毁灭性病害。该病菌为一种土壤习居菌, 极易从根系、茎部伤口侵入植株, 进而危害整个维管系统引起植株萎蔫枯死。据调查, 田间一般的发病株率为 10%~20%, 重病田高达 30%~40%, 局部地块甚至绝收。特别是随着化学肥料的大量使用和土壤复种指数的提高, 再加上目前未能找到理想的防治方法, 使得近年来, 姜青枯病发生普遍, 危害严重。该病的防治一直是学术界的一大难题, 现将其研究进展综述如下。

1 姜青枯病的病原菌

1.1 病原及生物型(biotype)的划分

植物细菌性青枯病病原在分类地位上随着分类技术的发展日趋科学。最早是由 E F Smith 鉴定并定名为 *Pseudomonas solanacearum*。Yabuuchi 等根据 DNA—DNA 和 DNA—RNA 分子杂交, 以同源性分析为基础将其纳入 *Burkholderia*

solanacearum。随后又据表型特征, 脂肪酸图谱 DNA—DNA 同源性以及 16sRNA 序列分析等多元分类方法, 建议将该菌列为新属 *Ralstonia*。1996 年由 IJSB 正式更名为 *Ralstonia solanacearum*, 并被广泛接受^[2-3]。按 Hayward 的方法^[4], 国际上公认将青枯菌划分为 5 个生物型: I、II、III、IV、V。生物型有一定的地理特异性, 如生物型 I 在美洲占优势, 而在亚洲则以生物型 II 为主。据华静月等报道, 我国植物上青枯假单胞菌生物型有 II、III、IV 型, 另外还有 V 型^[5]。生物型也并不是一个稳定的群体, 与光照强度、土壤温度等生态因子和寄主植物抗性有密切的关系。

1.2 致病因子

青枯菌的致病因子目前尚无定论, 一般认为青枯菌胞外多糖(EPS)、降解植物细胞壁的纤维素酶和果胶酶是病原菌在维管束中群居蔓延以及引起植物细胞坏死和溶菌作用所必需因子^[6]。康耀卫等在研究青枯菌胞外蛋白的特性时发现青枯菌胞外总蛋白在致病过程中起着十分关键的作用^[7]。刘焕利等人采用转座子诱变的方法也得出同样的结论^[8]。

1.3 传播途径

病原菌主要的传播途径如下: ①种姜带菌是田间病害主要的初侵染源, 也是远距离传播病害的主要途径; ②姜田病株残体可使土壤带菌; ③施

收稿日期: 2003—04—01

作者简介: 严金平(1979—), 女, 湖北荆门人, 在读硕士, 主要从事应用微生物方面研究。

通讯作者: 孙启玲

用以病株残体或带菌的土壤沤制的圈肥会加大姜田病菌量;④灌溉水是传播病菌的媒介。

1.4 发病条件

姜瘟病的发生与时间、气候、土壤环境及姜品种关系密切。华北地区一般在7月份始发,8~9月份发病最盛,10月份停止。田间病菌生长的最适温度为26~31℃,所以在高温多雨天气,特别是土温变化剧烈有利于该病发生流行,可在短时间内引起大批植株发病。地势低洼、土质粘重、长期连作、无覆盖物、偏施氮肥则发病重。发病与姜品种的抗病性有关,如广东细肉姜、义乌首姜等品种抗病性强,而大肉姜的抗病性弱^[9]。

1.5 病原菌的检测

国内外专家就此进行了多项研究。1977年Gorris等人将经富集培养的青枯菌进行NCM—ELISA检测,取得了很好的效果。1991年谢云陆等应用单克隆抗体IF和ELISA2种免疫学方法检测了种姜姜瘟病,其特异性强,准确度高,是检验种姜带菌量较为理想的手段之一^[10]。但目前的检测方法大多还处于实验室阶段,且主要用于种姜带菌量检测,对大田发病情况,特别是对新近感染和处于潜伏阶段的植株检测困难。

2 防治研究

2.1 化学防治

化学防治在青枯病的防治史上扮演着重要角色。常用的化学药剂有:甲霜灵、乙磷铝、噁菌铜、高锰酸钾、甲醛、氯化苦原液等。施用方式主要有种姜播前处理和土壤消毒。甲醛溶液、高锰酸钾等药剂喷洒种姜能有效地杀死种姜表面和表皮内大部分细菌,有一定的防治效果。2001年,刘升基等的大田试验证明,用99%氯化苦原液处理土壤防治姜瘟病效果显著,且药效持久^[11]。尽管氯化苦原液等化学药剂的使用在姜瘟防治上起到了一定的作用,但都只是非特异性的杀死土壤微生物,对土壤的理化和生物学特性影响会加重病情,还会造成环境和食品污染,并不符合绿色农业的要求。随着化学农药危害性的日益暴露,人们加大了对生物农药的开发力度,姜瘟病的生物防治研究进展迅速。

2.2 生物防治

20世纪70年代末,以无致病力产细菌素之青枯菌菌株防治青枯病,取得了一定的效果。此

后利用微生物间的拮抗机制防治植物青枯病的研究进展迅速。1964年至今,曾经试验过的拮抗微生物有无致病力产细菌素的青枯病菌、荧光假单胞杆菌、放线菌、芽胞杆菌、噬菌体和木霉等。目前的研究主要集中在抑菌物质特性研究和菌剂开发两个方面。

2.2.1 抑菌物质 目前已研究的姜青枯病生防菌所产生的抑菌物质主要包括细菌素和农用抗生素。1954年Okabe首次发现青枯菌一些菌株有产生抑菌物质的能力,并于1978年为Cuppels所证实此抑菌物质是一种低分子量细菌素^[12,13]。此后,章健等分离纯化了青枯菌无致病力菌株nOE-104所产细菌素,证明该细菌素具有蛋白质性质^[14]。2002年杨合同等从生姜块茎周围的土壤中筛选到产芽胞细菌B130,研究证明该菌能产生细菌素和大量的细胞分裂素,能刺激植物根系发育,对姜瘟病的防效可达80%左右^[15]。细菌素生物特性的研究为青枯病的生物防治提供了理论依据。此外,金核霉素、氯霉素、青霉素、土霉素、新植霉素、金霉素、链霉素等农用抗生素也被用于大田试验,但防效并不显著。

2.2.2 菌剂研究 活体菌剂研究是姜青枯病防治的重要组成部分。1990年杨合同等从姜田土壤中分离得到一批有姜瘟生防潜能的菌株,并将室内抑菌最明显的B130菌株制成泥炭菌剂进行试验,以无致病力产细菌素的青枯菌菌株MA-7作为对照,结果表明B130制剂防病和增产效果均较MA-7制剂高,对姜青枯菌具有良好的防治效果^[16]。2001年杨合同等进一步研究将B130菌株鉴定为巨大芽胞杆菌,在盆栽条件下B130能在生姜块茎周围有效定殖和转移,显著降低青枯菌的群体数量,表现出较好的防病效果。山东省生物研究所与南京农业大学共同研制的复合菌剂姜瘟灵,防治后可增产40%左右。但拮抗菌株普遍存在对已感染块茎的病原菌抑制作用比较差,因而治病效果并不佳。2002年高培基^[17]等筛选得到一株可有效抑制姜青枯菌的木霉菌株SMF2(*Tricoderma* spp SMF2),为姜青枯病的生防提供了新的菌种资源和研究思路。

2.3 综合防治

目前仍未能找到防治青枯病特别是已发病姜田治理的有效方法,加强以防为主的综合防治是青枯病防治的有效措施。Yoshitake shiomi等研

究抑病土壤与易感病土壤微生物群落结构时发现病原菌很难在微生物多样性高的土壤中滋生^[18]。台湾也曾报道抑菌土用于青枯病的防治^[19]。1998 年吴应元等在统糠、干鸡粪和鱼粉等的混合物中加入 EM (Effective Microorganisms) 经发酵制成堆肥后作底肥、叶肥施用于生姜重茬田, 收获前调查, 平均防效达 85.6%, 且较对照组增产 4.26%。EM 可直接抑制病原菌, 能有效的改善土壤微环境, 较有研究前景。

此外, 还需配合使用其他措施, 包括种姜选择和耕作管理两个方面。大量调查结果证明, 实行轮作特别是大面积连片隔年水旱轮作防病效果显著。选择抗性品种, 积极防范菌源隐患, 防止灌溉水带菌, 积极挖除田间病株。加强栽培管理, 如采取姜田收后深耕暴晒、高畦栽培、降低姜田湿度, 合理施基肥并增施磷钾肥等措施, 能有效的改善姜生长的微环境, 提高姜抵抗病原菌侵染的能力。

3 结语

尽管姜青枯病病原菌及其防治的研究已有不少, 但大田试验效果普遍较差。笔者认为今后的研究应从以下方面进行: 加强青枯菌的致病机理研究特别是分子水平的致病机制, 同时加强生防菌抑病机理的研究, 从生态学的水平加强生防菌与姜之间生态关系研究, 防止次要病原菌上升为主要病原菌; 加强对病原菌检测方法特别是检测方法大田可操作性的研究, 以便尽早发现病情; 加大对新的生防菌和抑菌活性物质的研究, 并辅之以剂型加工和活性成分助剂研究以提高生防因子的药效; 加强抗病基因工程植株的研究; 重视农业田间防病管理措施等, 对姜细菌性青枯病的研究将会有突破性进展。

参考文献:

[1] Kakar SS, Roy D. Curcumin inhibits TPA induced expression of c-fos, c-jun and c-myc proto-oncogenes messenger RNAs in mouse skin[J]. Cancer Lett, 1994, 87 (1): 85—89.

[2] Mugula. Validation of publication of new names and new combinations previously effectively published outside the IJSB[J]. Apr, 1996, 29: 65—87.

[3] Yabuuchi E Y, Kosak O I, Yan O H, et al. Transfer of two burkholderia and an alcaligenes species to *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) comb Nov, *Ralstonia solanacearum* (Smith 1986) comb Nov

and *Ralstonia cutropha* (Davis 1969) comb Nov, Mirobiol[J]. Immunol, 1995, 39: 897—904.

[4] Hayward AC. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum* [J]. J Appl. Bac, 1978, 164(27): 165—267.

[5] 华静月. 我国植物青枯菌的生化型和其他生理差异 [J]. 植物保护学报, 1984, 11(1): 43—50.

[6] Qi huang and Cactilyn Allen. Polygalacturonases are required for rapid colonization and full virulence of *Ralstonia solanacearum* on tomato plants[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2000, 57: 77—83.

[7] 刘焕利, 何礼远, 毛国璋, 等. 植物青枯菌胞外蛋白相关基因的克隆 [J]. 植物病理学报, 1999, 29(2): 110—113.

[8] 何礼远, 康耀卫. 植物青枯菌(*Pseudomonas solanacearum*)致病机理 [J]. 自然科学进展, 1995(5): 7—16.

[9] 杨寿光, 郭晓丽, 李向英, 等. 姜瘟病的发生与防治 [J]. 山东蔬菜, 2000(4): 34—35.

[10] 谢云陆. 应用单克隆抗体免疫学技术检测种姜姜瘟病的初步研究 [J]. 植物保护, 1991(5): 23—24.

[11] 刘升基, 赵华桐, 于泳, 等. 氯化苦原液处理土壤防治姜瘟病实验初报 [J]. 植保技术与推广, 2001, 21 (3): 17.

[12] Cuppels D A, Clinton R. Isolation and characterization of bacteriocin produced by *P. solanacearum* [J]. Gen microbe, 1978, 109: 295—303.

[13] Abo-El-Dahab M K. Antagonism among strain of *P. solanacearum* [J]. Pytopathology, 1969, 59 (7): 1 005—1 007.

[14] 章健, 任欣正. 青枯假单胞菌细菌素的研究 [J]. 南京农业大学学报, 1993, 16(4): 63—67.

[15] 杨合同, 唐文华, 迟建国, 等. 植病生防菌株 B130 的种类鉴定及其对生姜青枯菌的作用机理和防治效果 [J]. 中国生物防治, 2002, 18(1): 21—23.

[16] 杨合同. 姜瘟菌生物防治试验初报 [J]. 山东科学, 1990, 3(4): 42—46.

[17] 孙彩云, 潘军, 陈秀兰, 等. 抑制姜瘟青枯假单胞菌的木霉菌株的筛选及其抑菌机理 [J]. 山东大学学报, 2000, 37(4): 373—375.

[18] Yoshitaka shiomi, Masaya Nishiyama, Tomoko Onizuka. Comparison of bacterial community structures in the rhizoplane of tomato plant grown in soils suppressive and conducive towards bacterial wilt [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(9): 3 996—4 001.

[19] 徐世典. 台湾植物青枯病菌之生态与防治 [J]. 植物保护学会会刊, 1991, 33 (1): 72—99.