

利用无致病力青枯菌株防治 番茄青枯病的研究*

董春 曾宪铭 刘琼光

(华南农业大学资源环境学院, 广州, 510642)

摘要 自发突变的无致病力番茄青枯菌株 Tm3 具有产生细菌素的能力, 对番茄青枯菌株 Tm46 有较强的抑菌作用, 且能诱导烟草植株产生过敏反应。盆栽和小区试验结果表明, Tm3 具有较好的防治番茄青枯病的能力。防病机理可能是细菌素的抗生性和诱导植物抗病性的双重作用。

关键词 青枯菌; 细菌素; 诱导抗性; 番茄青枯病; 生物防治

中图分类号 S 432.4

植物细菌性青枯病 (*Ralstonia solanacearum*) 是热带、亚热带和温带地区普遍发生的病害。青枯病菌能侵染马铃薯、番茄、烟草、茄、花生、甘薯、草莓、香蕉、桑树、桉树、木麻黄等多种草本和木本植物, 造成严重的经济损失(何礼远等, 1995)。目前生产上主要是选用抗病品种和采用轮作等农业措施防治该病, 但效果仍不够理想。利用无致病力产细菌素青枯菌株 (Avirulent bacteriocin producing strain, 简称 ABPS) 对作物青枯病进行生物防治, 是一个有益的尝试, 并有相关的报道 (Chen et al, 1984; Hara et al, 1991; 任欣正等, 1993; 郑继发等, 1994)。

番茄青枯菌株 Tm3 具有较强的产细菌素能力和相对较广的抑菌谱(董春等, 1999), 同时该菌株在长期的保存过程中丧失了对寄主植物的致病性。本文通过盆栽和田间小区试验, 探索利用 Tm3 防治番茄青枯病的生防潜能。

1 材料与方法

1.1 供试菌株和植物品种

番茄青枯菌株 Tm3 和 Tm46, 由华南农业大学细菌研究室从番茄上分离得到; 桉青枯菌株 Eu1, 由华南热带农业大学植保系提供。所用番茄品种为红牡丹, 烟草品种为 K326。

1.2 培养基

固体培养基为 PSA, 致病性测定培养基为 TZC, 配方见 Kelman (1954)。液体培养基为 Watanabe 无机培养液, 配方为: L-谷氨酸 1.0 g, L-半胱氨酸 0.5 g, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 3.0 g, 蔗糖 5.0 g, KH_2PO_4 2.0 g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 1.0 g, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g, pH 6.5~7.0。

1.3 供试菌株产细菌素的测定

将青枯菌株 Tm3 和 Eu1 点接到 PSA 平板上, 将浓度为 10^9 cfu/mL 的 Tm46 菌悬液喷雾到平板上, 每皿喷雾 0.2 mL, 28 °C 培养 48 h 后调查抑菌作用。

1.4 Tm3 的致病性和过敏性反应的测定

(1) 致病性测定。将 Tm3 在 TZC 平板上划线, 28 °C 培养 48 h, 观察菌落形态和颜色; 用

1999-03-20 收稿 董春, 男, 33 岁, 讲师, 在职博士生

* 广东省自然科学基金(940360)资助项目

10^8 cfu/mL Tm3 菌悬液通过茎部注射和淋根接种烟草和番茄,发病条件下观察致病情况。

(2) 过敏性反应测定. Tm3 接入 50 mL Watanabe 培养液中, $28 \sim 30^\circ\text{C}$ 120 r/min 振荡培养 24 h, 3 000 r/min 离心 5 min, 沉淀用无菌水清洗 1 次, 并用无菌水悬浮至 10^7 cfu/mL. 用注射针在烟草叶面扎小孔, 用注射器将菌悬液压入叶肉组织中, 使注射部位出现水渍斑, 24 h 后调查过敏性枯死斑。

1.5 Tm3 对番茄青枯病的防病试验

(1) 盆栽防病试验. 番茄苗在 $10^8 \sim 9$ cfu/mL 的 Tm3 菌悬液中浸根 6 h, 然后移栽到钵中, 每处理 10 株苗. 移栽成活后用致病菌株 Tm46 菌悬液 (10^7 cfu/mL) 淋根接种, 每株淋菌悬液 50 mL. 以水浸根处理为对照。

(2) 小区防病试验. Tm3 菌悬液浸根处理番茄苗方法同盆栽防病试验, 浸根后的番茄苗移栽到常年番茄青枯病发生严重的试验地中, 每处理 10 株番茄苗, 3 次重复, 以清水浸根处理为对照。

2 结果与分析

2.1 Tm3 对番茄青枯菌株的抑菌能力

番茄青枯菌株 Tm3, 具有较强的产生细菌素的能力, 对番茄青枯菌株 Tm46 具有抑菌作用, 在 PSA 平板上形成明显的抑菌圈(图 1), Eu1 为产细菌素对照菌株。

2.2 Tm3 的致病性和过敏性反应

Tm3 在 TZC 培养基上出现窄白边的深红色菌落, 表明 Tm3 丧失了致病性; 通过茎注射和淋根接种也都不能引起烟草和番茄植株发病. 将 10^7 cfu/mL 的 Tm3 无菌水悬浮液, 注入烟草叶肉细胞中, 24 h 后出现典型的过敏性枯死斑(图 2), 表明 Tm3 能诱导烟草的防卫反应。

2.3 青枯菌株 Tm3 对番茄青枯病的防病试验

(1) 盆栽防病试验. 用 $10^8 \sim 9$ cfu/mL 的 Tm3 菌悬液浸根番茄苗 6 h, 移栽到钵中; 番茄苗移栽成活后, 用 50 mL 强致病力菌株 Tm46 的菌悬液 (10^7 cfu/mL) 淋根接种. 3 d 后, 对照开始发病, 随后发病率迅速上升, 到 21 d, 所有植株都发病; 而经 Tm3 菌悬液浸根处理的番茄苗, 9 d 后才

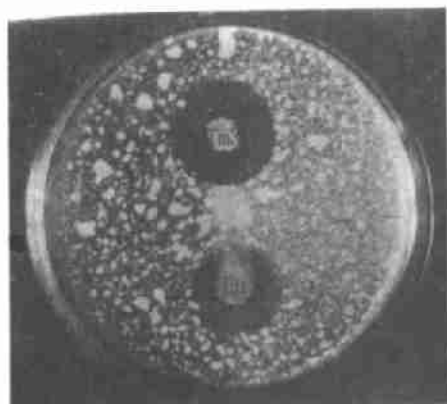


图 1 番茄青枯菌株 Tm3 细菌素的产生和对番茄青枯菌株 Tm46 的抑菌能力(示抑菌圈)

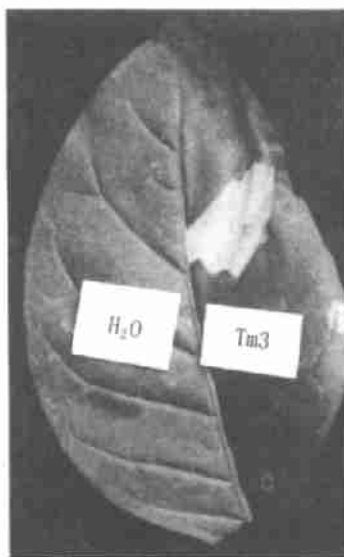


图 2 青枯菌株 Tm3 在烟草上的过敏性反应

开始发病,第 21 d 发病率为 60%(图 3).

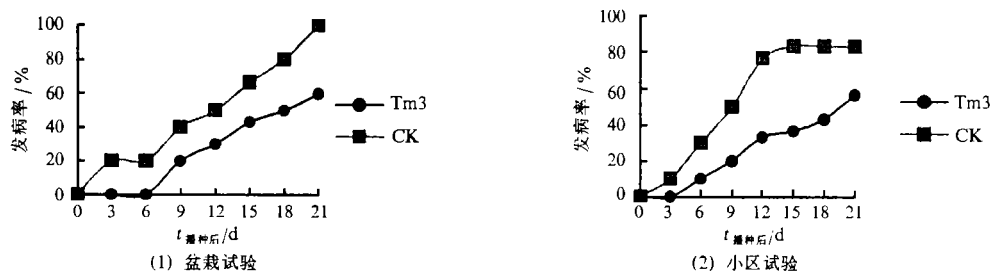


图 3 番茄菌株 Tm3 处理后番茄青枯病的发生情况

(2) 小区防病试验. 经 Tm3 菌悬液浸根处理的番茄苗,移栽到常年番茄青枯病发生严重的试验地小区中,发病情况类似于盆栽试验(图 3). 到第 15 d,对照小区平均发病率为 83.3%, Tm3 菌悬液处理小区平均发病率为 36.7%,平均防效为 55.9%(表 1). 但随后 Tm3 处理小区发病也逐渐上升(图 3).

表 1 Tm3 对番茄青枯病的防治作用(小区试验)¹⁾

处理	发病株数			平均发病率	平均防效
	I	II	III		
Tm3	3	3	5	36.7	55.9
CK	7	9	9	83.3	

1)移栽后 15 d 的调查数据, 每小区种植 10 株番茄苗,3 次重复

3 讨论

利用拮抗菌防治作物青枯病,定殖能力是一个重要的影响因素. Tm3 是从寄主作物上分离到的青枯菌株,虽然丧失了致病能力,但可能仍然和其野生型菌株一样,具有较好的在番茄根部吸附和定殖能力.

Chen 等(1984)和郑继发等(1994)曾报道在利用 ABPS 防治烟草青枯病的过程中,细菌素的产生起着重要的作用;任欣正等(1988)在利用 ABPS 油橄榄菌株 OE-104 对番茄青枯病进行生物防治试验时也认为,ABPS 对寄主植物的保护作用主要是由细菌素介导的.

但是对于利用 ABPS 防治青枯病过程中细菌素所起的作用也有不同的报道. Arwiyanto 等(1994)利用能产生细菌素的芭蕉科植物青枯菌株 Str-10 防治番茄青枯病,Str-10 对细菌素敏感和具有抗性的番茄致病菌株都有较好的防病效果. 因此他认为:尽管 Str-10 能产生细菌素,但是细菌素对于控制番茄青枯病可能是无关的,Str-10 能控制番茄青枯病可能是诱导了寄主的抗病性.

在 Tm3 防治番茄青枯病的机理中,作者认为,细菌素的抗生作用和诱导寄主抗病性两方面可能都在起作用. 从浸根处理的使用方法来看,Tm3 可能吸附和定殖在番茄的根部,产生的细菌素抑制病原菌的生长和繁殖,有效地降低病原菌的数量,减少病原菌侵入的机率;同时 Tm3 还可作为一种无毒或弱毒菌株起着交互保护和诱导寄主抗病性的作用;另外, Tm3 能诱导

烟草等植物产生过敏性反应,表明 Tm3 有与诱导寄主防卫反应相关的 *hrp* 基因,但是要确定是细菌素还是诱导抗病性起主要作用,则需要对 Tm3 在番茄根部的定殖、在植株体内的传导和消长动态以及诱导抗病性的分子证据等进行深入的研究。

参 考 文 献

- 任欣正,申道林,方中达. 1988. 无致病力产细菌素拮抗菌 MA-7 防治番茄青枯病研究初报. 生物防治通报, 4(2):62~64
- 何礼远,康耀卫. 1995. 青枯病菌的致病机理. 自然科学进展, 5(1):7~16
- 郑继发,张建华,许永玉. 1994. 利用无毒产细菌素菌株防治烟草细菌性青枯病. 中国烟草, (3):21~24
- 董 春,王金生,范怀忠. 1999. 农作物青枯病菌产细菌素能力的测定. 华南农业大学学报, 20(3):19~22
- Arwiyanto T, Goto M, Tsuyumu S. 1994. Biological control of bacterial wilt of tomato by an avirulent strain of *Pseudomonas solanacearum* isolated from *Streptomyces reginae*. Ann Phytopathol Soc Japan, 60:421~430
- Chen W Y, Echandi E. 1984. Effects of avirulent bacteriocin producing strains of *Pseudomonas solanacearum* on the control of bacterial wilt of tobacco. Plant pathol, 33:245~253
- Hara H, Ono K. 1991. Effect of weakly-virulent bacteriocin-producing strain of *Pseudomonas solanacearum* on the protection of tobacco plant from bacterial wilt. Ann Phytopath Soc Japan, 57:24~31
- Kelman A. 1954. The relationship of pathogenicity in *P. solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. Phytopathology, 44:693~695

Biological Control of Tomato Bacterial Wilt with Avirulent Bacteriocinogenic Strain of *Ralstonia solanacearum*

Dong Chun Zeng Xianming Liu Qiongguang

(College of Natural Resources & Environment, South China Agric. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract The avirulent and bacteriocinogenic strain Tm3 of *Ralstonia solanacearum* had inhibiting effect on tomato virulent strain Tm46 and could induce hypersensitive response(HR) in tobacco plants. Its ability to protect tomato plants from bacterial wilt was investigated in greenhouse and the results indicated that strain Tm3 had a good effect on the biological control of tomato bacterial wilt. The possible mechanisms for the protection were both antibiosis of bacteriocin and induced resistance of hosts.

Key words *Ralstonia solanacearum*; bacteriocin; tomato bacterial wilt; biological control

【责任编辑 张 砾】