

假单胞菌在烟草病虫害防治中的应用

陈磊 (中国烟草总公司重庆市公司彭水分公司, 重庆 409600)

摘要 烟草病虫害防治工作是烟草行业工作中的重点与难点, 目前主要采用农业防治、化学防治和生物防治。生物防治大致又可分为以虫治虫、以鸟治虫和以微生物治虫三大类。其中, 以微生物治虫是生物防治中重要手段之一, 包括用细菌治虫、用真菌治虫和用放线菌治虫。主要介绍了假单胞菌在烟草病毒性病害、真菌性病害、细菌性病害以及其他病害防治中的应用情况, 并对今后生防菌在植物病害防治上的应用进行了展望。

关键词 假单胞菌; 烟草病虫害; 生防菌; 防治; 应用

中图分类号 S435.72 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2021)02-0005-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.02.002



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Application of *Pseudomonas* in Control of Tobacco Diseases and Insect Pests

CHEN Lei (Pengshui Branch of Chongqing Tobacco Company, Chongqing 409600)

Abstract Control of tobacco diseases and insect pests is the key and difficult point in the tobacco industry. At present, agricultural control, chemical control and biological control are mainly used in control of tobacco diseases and insect pests. The latter can be divided into three categories, i.e. insect control, bird control and microbiological control. Among them, microbiological control is one of the important means of biological control, including bacteria control, fungi control and actinomycetes control. In this paper, it mainly introduced the application of *Pseudomonas* in the prevention and control of tobacco viral diseases, fungal diseases, bacterial diseases and other diseases, and prospected the application of biocontrol bacteria in plant diseases and insect pests control in the future.

Key words *Pseudomonas*; Diseases and insect pests in tobacco; Biocontrol bacterium; Control; Application

烟草(*Nicotiana tabacum* L.)是茄科烟草属一年生或有限多年生草本植物, 广泛分布于南美洲、南亚及中国。我国是当今世界第一大烟草生产国, 烟叶产量约占世界总产量的30%^[1]。烟草不仅是日常消费品香烟的重要原料, 同时也是医疗工业中常用的原料之一, 如常被制成麻醉剂、镇静剂、发汗剂和催吐剂等^[2]。作为我国的重要经济作物, 烟草仅因病虫害造成的产量损失就占年总量的10%~15%^[3]。据报道, 在我国对烟草造成危害的害虫有烟蚜、烟青虫、斑须蝻和斜纹夜蛾等200多种^[4]。烟草侵染病害约有70余种, 主要病害有病毒病、黑胫病、赤星病、炭疽病、青枯病和根结线虫病等^[5]。目前, 烟草病虫害防治主要采用农业防治、化学防治和生物防治。化学防治因其高效、简便的特点, 仍然是农业生产上的主要措施之一, 但长期大量的使用化学农药让环境污染问题日趋严峻^[6-7]。

生物防治是利用生物物种间的相互关系, 以一种或一类生物抑制另一种或另一类生物, 从而达到提高寄主植物的抗性, 控制病虫害侵害植株的目的^[8]。相对农药等非生物防治病虫害方法而言, 生物防治的最大优点是对环境友好, 从而获得良好的经济效益、社会效益和环境效益。生物防治的方法有很多, 包括利用寄生性天敌防治、利用捕食性天敌防治和利用微生物防治。微生物防治是生物防治中主要手段之一, 主要有传播病原微生物使害虫感染流行性疾病^[9]、利用微生物的代谢物防控病虫害^[10]、利用拮抗微生物进行烟草病虫害防治3种防治措施^[11-12]。用于烟草病虫害防治的微生物中, 主要包括真菌、放线菌和细菌等。该研究就假单胞菌在烟草病虫害防治中的应用进行综述, 以期同类研究及烟草生产上病虫害的生物防治提供参考依据。

1 烟草病毒性病害的防治

自20世纪50年代以来, 烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)给整个烟草行业造成了极为严重的经济损失, 成为烟草生产威胁最大的灾害之一^[13]。因此, 如何防治TMV成为世界性的难题。

长期以来, 尽管绿针假单胞菌O6(*Pseudomonas chlororaphis* O6)被认为是一种能诱导对植物病毒产生系统抗性的根际细菌, 但其来自菌株O6的抗病毒产物尚不清楚。Park等^[14]从菌株O6的无细胞上清液中分离鉴定出一种分子式为C₃₉H₆₇N₉O₁₂S的抗病毒环状多肽; 该抗病毒产物在1000 μg/mL时, 能够抑制超过95%的TMV的活性。某些人类致病或条件致病假单胞菌也显示出抗植物病毒作用。如翟熙伦等^[15]从烟草花叶病毒高发区健康植株的根际土壤中成功分离出菌株4A1, 经鉴定为蒙氏假单胞菌(*Pseudomonas monteilii*); 枯斑寄主半叶法显示其对TMV的抑制效果可超过98%; Real-time PCR检测结果显示其发酵液对TMV、PVY(马铃薯Y病毒, *Potato virus Y*)具有显著的抑制活性; 田间试验结果表明提前对烟草植株进行发酵液的喷施, 可抑制大部分病毒病的侵染。翟熙伦^[16]后续研究表明, 蒙氏假单胞菌4A1菌株发酵液中的活性物质能破化TMV粒体, 对病毒产生钝化作用, 破坏病毒蛋白亚基之间的作用力, 使病毒缺乏完整性, 从而无法在寄主内增殖, 成功降低病毒的侵染能力。袁莲莲等^[17]从消灭初侵染源和切断传播途径出发, 选用具有显著拮抗活性的蒙氏假单胞菌3A菌株, 对烟草漂浮育苗过程被TMV污染的育苗棚、育苗盘、基质及剪叶机械进行生物钝化, 结果表明, *P. monteilii* 3A菌悬液可显著钝化病烟苗残留干叶及干根中的TMV; 剪叶机械经*P. monteilii* 3A菌悬液处理后, 可一定程度抑制TMV的侵害, 相对防效达51.42%~100%; 基质经*P. monteilii* 3A菌悬液处理后, TMV的

含量下降了 72.73%~88.46%，相对防效达 61.56%~87.46%。在 TMV 防治上，该措施可作为一种安全、持续、无污染及低碳的防治措施。郭丛等^[18]从 TMV 重病区中健康植株 K326 根际土壤中筛选出的 A3 菌株，鉴定为恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*)，具有高度拮抗活性，半叶法接种结果显示，其发酵液对 TMV 的抑制效果可达 95% 以上；同时，用恶臭假单胞菌制成的恶臭假单胞菌水剂还具有降低烟碱含量的作用，可修复烟草污染的土壤，提高烟草上部叶的工业可用性。通过对 A3 抗病毒活性物质机理进一步研究，发现恶臭假单胞菌 A3 的发酵液对 TMV 产生钝化作用，抑制 TMV 外壳蛋白的聚合，并破坏粒体的完整性^[19]。Shen 等^[20]报道了温室和田间试验中荧光假单胞菌 CZ 影响 TMV 感染烟草 (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun NN) 的研究，结果发现在温室试验中，与对照组 (接种水和 TMV 的混合物) 相比，接种 100 倍稀释的 CZ 菌粉和 TMV 粒子的混合物的烟叶组织，TMV 体外抑制率为 88.3%；2010 和 2011 年的田间试验中，喷施 100 倍稀释的 CZ 的植株，TMV 抑制率分别为 58.2% 和 47.6%，与宁南霉素的效果相似。这些结果表明，荧光假单胞菌 CZ 菌株显示出较强的抗 TMV 能力，具有潜在的应用前景。

2 烟草真菌性病害的防治

在烟草种植中，从育苗到收获，常常会遭受诸如烟草赤星病、烟草黑胫病、烟草炭疽病等^[21]真菌性病害的侵害，一旦出现这些真菌性病害，烟草产量会严重缩减，甚至会出现绝收的情况。

2.1 烟草赤星病的防治 李爱荣^[22]筛选出的荧光假单胞杆菌 (*P. fluorescens*) AbIII745-6 的发酵液对烟草赤星病的抑制率在 60% 以上，发酵液 ($10^8 \sim 10^9$ CFU/mL) 在稀释 1 000 倍时促进植株幼苗的生长。在闫孟红^[23]的研究中，分离出铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 3 株 (GF8、YL10、Kr22) 及假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.) 4 株 (Kr7、Kr14、Yr33、Yr37)，拮抗性试验结果表明 GF8、Yr33、Yr37 这 3 株假单胞菌对烟草赤星病原菌 (*Alternaria alternata*) 有一定程度的抑制作用。张亚等^[24]在研究铜绿假单胞菌 SU8 对植物病原真菌的抑制作用中发现，SU8 菌株抑制烟草赤星病菌孢子生长的能力强，其发酵液对烟草赤星病菌的抑制作用较弱，但 SU8 菌发酵液乙酸乙酯提取物能对烟草赤星病菌产生较强的抑制作用，抑菌带宽度达 3.92 cm。赵飞龙等^[25]从大豆根瘤中筛选出多株能够拮抗烟草赤星病菌的内生菌，其中菌株 DD201 和 DD029 对烟草赤星病的抑菌率分别高达 49.6% 和 48.9%；形态学和生理生化特征以及系统发育分析表明这 2 个菌株分别属于假单胞菌属的蒙氏假单胞菌和台湾假单胞菌 (*Pseudomonas taiwanensis*)。

2.2 烟草黑胫病的防治 董国菊^[26]研究表明荧光假单胞菌 (*P. fluorescens*) P-72-10 菌株对烟草黑胫病有很强的抑制作用，平板对峙试验中相对抑制率为 68.57%；胞外代谢产物粗提物浓度越大，对病原菌的抑制作用越强；用带菌培养液灌根处理烟草幼苗后可减轻烟草植株的发病率；菌株产生的挥发性代谢产物抑制病菌菌丝生长。推测了 P-72-10 菌株对

烟草疫霉的抑制机制：菌株的悬浮液及胞外代谢物能诱发病原菌菌丝分支增多、顶端膨大畸形、原生质渗漏，从而抑制病原菌菌丝的生长；还可能由于是 P-72-10 菌株产生嗜铁素，让低铁环境中的 Fe^{3+} 更加容易与其结合，从而限制了病原菌孢子的萌发与生长。唐远江^[27]采用菌饼法测出缺陷假单胞菌 (*Pseudomonas diminuta*) HD13 对烟草黑胫病的抑制率为 72.36%。杨艺炜^[28]从烟草黑胫病暴发地块的健康植株根际土壤中筛选出一株生防菌绿针假单胞菌 (*P. chlororaphis*) XF10，该菌株产生纤维素酶和蛋白酶，其菌悬液及发酵液对烟草黑胫病菌的抑制率均达 80% 以上；其菌悬液及发酵液对烟草黑胫病菌孢子囊产生、孢子囊释放、游动孢子萌发抑制作用；平板对峙法结果表明菌株 XF10 的挥发性代谢产物能抑制烟草黑胫病菌的生长，抑制率达 86%。千慧敏等^[29]采用平板对峙和含毒介质法，研究了铜绿假单胞杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) PA2101 和格拉纳达假单胞杆菌 PG3402 (*Pseudomonas granadensis*) 对烟草黑胫病原菌的拮抗作用，结果发现，菌株 PA2101 和 PG3402 对烟草黑胫病的生防效果分别为 70.11% 和 60.92%，表明这 2 种假单胞杆菌是具有生防潜力的菌株。常栋等^[30]采用平板对峙法，从健康烟草茎组织中分离出亚麻假单胞菌 KY (*Pseudomonas lini* KY)，并利用盆栽和田间试验考察了该菌株的生防效果，结果表明其盆栽相对防效可达 75.41%，大田相对防效可达 63.62%，且对烟株的株高、茎围均有促生作用，显示出巨大的应用价值。

2.3 烟草炭疽病的防治 万秀清等^[31]在筛选烟草炭疽病拮抗生防菌的工作中，筛选出一株含有 DAPG (2,4-二乙酰基藤黄酚) 合成酶基因及 PCA (吩嗪-1-羧酸) 基因的荧光假单胞菌 G20-9，抑菌带宽度为 0.3 cm，抑菌率达 56%。李国俊等^[32]利用荧光假单胞菌 7-5 对烟草炭疽病进行生物拮抗性测定，结果表明，菌株 7-5 对病原菌菌丝的抑制效果较好，抑制率达 60.8%，抑制作用可导致病原菌菌丝粗细不均、菌丝壁溃解、细胞质浓缩；菌株 7-5 的无菌上清液对病原菌孢子的萌发抑制效果较好，抑制率为 83.6%。

2.4 烟草根黑腐病的防治 Ramette 等^[33]报道了来自瑞士烟草根际土壤的 $Phl^+ HCN^+$ 假单胞菌菌株具有防治由根串珠霉 *Thielaviopsis basicola* 引起的烟草根黑腐病的潜力。Almario 等^[34]从根际生态和植物保护角度探讨了假单胞菌 *Pseudomonas protegens* (以前叫荧光假单胞菌) CHA0 在烟草根黑腐病的生物防治过程中所起的作用。千慧敏等^[29]报道了铜绿假单胞杆菌 PA2101 和格拉纳达假单胞杆菌 PG3402 (*Pseudomonas granadensis*) 对烟草根黑腐病原菌的拮抗作用，结果发现，菌株 PA2101 和 PG3402 对根黑腐病的生防效果分别为 62.67% 和 60.00%，表明这 2 种假单胞杆菌对根黑腐病有较好的防病效果。

3 烟草细菌性病害的防治

利用部分假单胞菌的拮抗作用对常见的烟草细菌性病害进行防治，如烟草野火病、烟草角斑病和烟草青枯病。

3.1 烟草野火病的防治 乔娉等^[35]从烟草根际土壤中发掘出一株对烟草野火病有防治作用的荧光假单胞菌 PF7-5，能

够通过发酵途径产生对烟草野火病具有显著防效的代谢产物;该菌株发酵液对烟草野火病的抑菌效果达96%,田间对烟草野火病的抑制效果强,生防效果达91.9%。

3.2 烟草角斑病的防治 乔婵等^[35]研究发现荧光假单胞菌PF7-5不仅对烟草野火病具有防治作用,还能够对烟草角斑病起抑制作用;菌株发酵液对角斑病的抑制率达71%,田间防效试验显示其对烟草角斑病的防效达89.4%。

3.3 烟草青枯病的防治 舒翠华等^[36]采用对峙培养法和抑菌活性试验,揭示假单胞菌 *Pseudomonas* sp. HN3 对烟草青枯病菌具有较好的拮抗效果。吴翔等^[37]从高粱根际土壤中获得一株对烟草青枯病病原菌具有较好拮抗效果的铜绿假单胞菌 MT-002-B-7,抑菌圈直径可以达到 28.67 mm;盆栽试验显示该菌株对烟草青枯病病原菌拮抗效果良好,可作为研制烟草生物肥料的菌株资源。

4 烟草其他病害的防治

烟草根结线虫病是影响烟草产量的又一种重要病害。朱致豫^[38]在筛选烟草根结线虫拮抗活性菌株的工作中,筛选到一株荧光假单胞菌 P-72-10,其发酵液对根结线虫的卵及二龄幼虫表现出较好的抑制作用,这种现象可能是由于菌株 P-72-10 产生的某种蛋白酶能直接或间接杀死二龄幼虫同时也能显著地降低植物根部皮层对线虫的吸引力;假单胞菌产生一种与 Fe^{3+} 相结合的物质,这种物质与 Fe^{3+} 稳定结合成螯合物定植于植株,使根结线虫无法获得足够营养的同时避免了寄主植株受到根结线虫的侵害。

5 展望

烟草行业给中国及世界经济带来巨大的经济效益,同时,烟草病虫害所造成的经济损失也不容忽视。在传统的化学防治方法上,研究者们正积极探究出一种更为经济、环保、可持续的生物防治方法。作为生防菌的重要一类,假单胞菌在防治烟草病虫害的问题上显示出的作用越来越大。微生物之间的拮抗作用对病虫害的防治起到关键性作用,同时利用假单胞菌的代谢产物等活性物质用作生物农药也在烟草病虫害防治上占一席之地。在技术层面,一方面,可利用基因工程手段对假单胞菌进行改造,以提高其对烟草病虫害的防治能力;另一方面,从不同生境中挖掘出更高效、更新颖的假单胞菌资源,同时采用不同的防治措施,尝试将不同的生防菌联合作用,选出更优化的防治组合,在植物病害中防治高效化,实现大规模的生产与应用。

参考文献

[1] 任怀玉.中国烟草业可持续发展的必由之路——加强烟草业的科技研发与应用[J].甘肃农业,2005(11):99.
 [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志[M].北京:科学出版社,1993.
 [3] 中国农业科学院烟草研究所.中国烟草栽培学[M].上海:上海科学技术出版社,2005.
 [4] 林兵.生物防治在我国烟草病虫害防治上的应用[J].湖南农机,2014,41(12):62,64.
 [5] 吴红波.生物防治在我国烟草病虫害防治上的应用[J].贵州农业科学,2006,34(S1):103-105.

[6] 王津军,文国松,丁金玲,等.烟草农药残留研究进展及降低烟叶农药残留的探讨[J].云南农业大学学报,2006,21(3):329-332.
 [7] 董志坚,程道全,董顺德,等.植物源农药在烟草病虫害防治上的研究与应用[J].中国烟草学报,2004,10(4):42-47.
 [8] 姚英娟,薛东,杨长举.论生物防治与持续植保[J].湖北植保,2003(6):33-34.
 [9] 罗巧玉,王晓娟,李媛媛,等.AM真菌在植物病虫害生物防治中的作用机制[J].生态学报,2013,33(19):5997-6005.
 [10] 杜本益.生物防治在烟草病虫害防治中的运用[J].农业与技术,2016,36(22):42-43.
 [11] 孔庆科,丁爱云.内生细菌作为生防因子的研究进展[J].山东农业大学学报(自然科学版),2001,32(2):256-260.
 [12] ANDREWS J H. Biological control in the phyllosphere[J]. Annual review of phytopathology, 1992, 30(1):603-635.
 [13] 王凤龙.烟草病毒病综合防治技术[J].烟草科技,2002,35(4):43-45.
 [14] PARK J Y, YANG S Y, KIM Y C, et al. Antiviral peptide from *Pseudomonas chlororaphis* O6 against tobacco mosaic virus (TMV) [J]. Journal of the Korean society for applied biological chemistry, 2012, 55(1):89-94.
 [15] 翟熙伦,杨金广,申莉莉,等.一株对 TMV 和 PVY 具有拮抗活性生防菌的筛选与鉴定[J].中国农业科学,2012,45(11):2180-2188.
 [16] 翟熙伦.蒙氏假单胞菌(*Pseudomonas monteilii*)的活性小分子物质对 TMV、PVY 的抑制作用[D].北京:中国农业科学院,2012.
 [17] 袁莲莲,王耀锋,刘相甫,等.蒙氏假单胞菌 3A 菌株对烟草漂浮育苗中 TMV 的钝化效果[J].植物保护,2017,43(2):37-42.
 [18] 郭丛,杨金广,申莉莉,等.一株对 TMV 具有显著拮抗活性的恶臭假单胞菌的筛选与鉴定[J].华南农业大学学报,2011,32(3):57-60.
 [19] 郭丛.恶臭假单胞菌 A3 菌株抗 TMV 的活性小分子物质分离及作用机理研究[D].北京:中国农业科学院,2011.
 [20] SHEN L L, WANG F L, YANG J G, et al. Control of tobacco mosaic virus by *Pseudomonas fluorescens* CZ powder in greenhouses and the field[J]. Crop protection, 2014, 56:87-90.
 [21] 谭海文.广西烟草真菌性病害调查[D].南宁:广西大学,2012.
 [22] 李爱荣.生防细菌菌株 AbIII745-6 的筛选、鉴定及其产生的抑菌活性物质的初步研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2004.
 [23] 闫孟红.具有生物防治作用的辣椒内生细菌及根面细菌的分离、筛选和初步鉴定[D].北京:首都师范大学,2004.
 [24] 张亚,苏品,刘双清,等.拮抗假单胞菌 SU8 对几种植物病原真菌的抑制作用[J].农药,2013,52(12):917-920.
 [25] 赵龙飞,徐亚军,侯怡婷,等.烟草赤星病菌拮抗性大豆根瘤内生菌的筛选及抑制作用[J].应用生态学报,2016,27(5):1560-1568.
 [26] 董国菊.荧光假单胞菌 *Pseudomonas fluorescens* P-72-10 菌株对烟草黑胫病的生防机理研究[D].重庆:西南大学,2012.
 [27] 唐远江.缺陷假单胞菌 HD13(*Pseudomonas diminuta*)抗植物病原真菌及其活性组分的研究[D].贵阳:贵州大学,2016.
 [28] 杨艺炜.绿针假单胞菌 XF10 对烟草黑胫病菌的拮抗作用研究[D].北京:中国农业科学院,2018.
 [29] 千慧敏,文艺,赵辉,等.烟草黑胫病和根黑腐病生防假单胞杆菌的筛选与鉴定[J].中国生物防治学报,2019,35(6):940-948.
 [30] 常栋,顾建国,贾方方,等.烟草黑胫病不同植物源生防菌的筛选及防效测定[J].中国烟草学报,2020,26(3):84-90.
 [31] 万秀清,郭兆奎,颜培强,等.烟草炭疽病拮抗生防菌的筛选[J].微生物学通报,2008,35(11):1727-1731.
 [32] 李国俊,李洪林,杨文,等.荧光假单胞菌菌株 7-5 对烟草炭疽病菌抑制作用的研究[J].现代农业科技,2008(21):135-136,138.
 [33] RAMETTE A, MOËNNE-LOCCOZ Y, DÉFAGO G. Genetic diversity and biocontrol potential of fluorescent pseudomonads producing phloroglucinols and hydrogen cyanide from Swiss soils naturally suppressive or conducive to *Thielaviopsis basicola*-mediated black root rot of tobacco[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2006, 55(3):369-381.
 [34] ALMARIO J, MULLER D, DÉFAGO G, et al. Rhizosphere ecology and phytoprotection in soils naturally suppressive to *Thielaviopsis* black root rot of tobacco[J]. Environmental microbiology, 2014, 16(7):1949-1960.
 [35] 乔婵,万秀清,颜培强,等.烟草野火病生防菌 PF7-5 的筛选及抗病性鉴定[C]//黑龙江省 2009 年度烟草学术交流研讨会论文集.哈尔滨:中国烟草学会,黑龙江省烟草学会,2009:446-454.
 [36] 舒翠华,彭可为,戴林建,等.烟草青枯病内生拮抗菌株 HN3 的鉴定与高产抗菌物质的培养基优化[J].中国农学通报,2013,29(10):108-113.
 [37] 吴翔,甘炳成,谢丽源,等.一株烟草青枯拮抗细菌的筛选、鉴定和培养特性研究[J].中国土壤与肥料,2019(2):208-215.
 [38] 朱致豫.烟草根结线虫生防菌的筛选及其技术体系的建立[D].重庆:西南大学,2014.