

综述

烟草野火病研究概况*

张广民 吕军鸿 阚光锋 王智发

摘 要

本文从地理分布、经济损失、症状、寄主范围、病原学、流行学和防治学方面对烟草野火病的研究概况进行了综述。

关键词: 烟草 野火病

中图分类号: S435.72 文献标识码: A 文章编号: 1004-5708(2002)02-0029-04

烟草野火病属爆发性细菌病害。该病最早于 1917 年由美国人 Wolf 和 Foster 报道^[1], 后在世界各产烟国都有发生。50 年代在我国辽宁即有该病发生危害的记载, 但直到 70 年代末, 我国烟区较少发生大面积危害, 一直为次要病害。自 80 年代以来, 此病在云南、辽宁、吉林等省开始流行, 连年发生, 危害较重, 成为烟叶生产中的主要病害之一^[2]。

1 地理分布及其重要性

1.1 地理分布

野火病在国内外发生普遍。已报道发生野火病的有美国、德国、希腊、新西兰、南非、日本、俄罗斯等 24 个国家。在我国, 据 1989~1991 年全国烟草侵染性病害调查, 已发现 14 个省区发生野火病, 其中东北三省、山东、云南及四川等省分布最广、为害严重。

1.2 经济损失

野火病一直不同程度地给烟叶生产造成损失。1921 年主要由于野火病为害, 弗吉尼亚州的烟草减产 2200 万磅; 在我国辽宁、山东、云南、河南、贵州等省发病尤为严重, 许多烟田发病率高达 40% 以上, 有的甚至高达 100%, 造成绝产绝收。值得注意的是, 野火病侵染的叶片在烘烤过程中, 病斑面积显著增大, 增加 89.7%, 造成更大的损失^[3]。

2 症状

野火病在苗床和大田都可发生, 主要危害叶片, 也可危害幼茎、蒴果、萼片等器官。叶片受害初期产生褐色水渍状小圆点, 周围有一个十分明显的黄色晕圈。在多雨高湿天气, 病斑扩展增大, 几个病斑愈合形成不规则的褐色大班, 宽晕圈仍存在, 上有不规则轮纹。天气干燥时, 病斑开裂脱落, 叶片碎毁。幼茎、蒴果、萼片发病后产生不规则小斑, 初呈水渍状, 以后变褐, 周围晕圈不明显^[1]。

3 病原学

野火病最早由 Wolf 和 Foster (1917) 描述病原。以后有许多人对其病原菌作了研究。由于野火病和角斑病在田间常混合发生, 病菌在细菌学性状上有许多相似之处, 在野火病菌命名上有一些争议。Valleau 等认为野火病菌是角斑菌的一个产生晕圈的菌系^[1]; Braun 从形态学、生理生化、血清学等方面比较了这两种菌, 认为这两种菌在细菌学性状上一致; 后来 Faby 等报道, 烟草野火病菌可以产生毒素, 引起叶片产生宽的褪绿晕圈, 而其在连续培养时可产生不产毒素的变异菌株, 此变异菌株不能引起叶片产生晕圈^[4]。因此, 在 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1985) 中已将角斑病菌并入野火病菌, 作为一个不产生野火毒素的菌系。现在大多数学者已接受野火病菌为假单胞杆菌属, 丁香假单胞菌烟草变种 *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* [Wolf & Foster (1917) Young, Dye & Wilkie (1978)]^[5]。曾用名: *P. tabaci* (Wolf &

* 张广民, 男, 48 岁, 教授, 山东农业大学植保系, 泰安, 271018

吕军鸿, 阚光锋, 王智发, 通讯地址同第一作者

本研究为国家烟草专卖局资助项目

收稿日期: 2001-05-22

Foster) Stevens

3.1 形态特征

菌体杆状,两端钝圆;单生;大小为 $0.5 \sim 0.9 \mu\text{m} \times 1.9 \sim 3 \mu\text{m}$;革兰氏染色阴性;1~6根极鞭或两极鞭毛;无荚膜,不产生芽孢。

烟草野火病菌可自发变异形成粗糙型、光滑型和中间型菌落。菌落的发生,形成按分层式进行,即细菌先在培养基平面上繁殖成一层,然后在该层的中心隆起,分裂繁殖形成第二层,以此类推。所形成的菌落圆形,菌落中菌体呈平卧状紧密排列。菌落边缘整齐,菌落表面亮,有细菌的分泌物^[6]。在肉汁胨液上生长快,浓云雾状,能产生果聚糖,无聚 β -羟基丁酸盐积累;在马铃薯块斜面上菌苔生长正常,无色;在孔氏(Cohn)培养液、Clara 费美 3种培养液中和 KB上产生绿色荧光,并以在 Cohn和 Clara培养液中生长较好。

3.2 生理生化特性

野火病菌耐盐度低于 4%;最适生长温度为 $24 \sim 28^\circ\text{C}$, 4°C 左右可以生长, 38°C 不能生长,致死温度为 52°C , 6min 在 PDA上只能存活 12d;在牛肉汁培养基上室温可存活 300d, 5°C 下可存活 $0.5 \sim 3\text{y}$;在灭菌水及纯琼脂上,亦可活 $0.5 \sim 3\text{y}$ 。野火菌经培养后常在短期内失去侵染力,但病菌在烟草离体组织中可保持活性和致病性至少 1y。

病菌好氧,能运动,能利用葡萄糖氧化产酸;能利用甜菜碱和柠檬酸钠产碱;能利用葡萄糖、甘油、甘露醇、水杨素、酒石酸盐等作为唯一碳源;不能利用乳糖、L(+)-鼠李糖、乙醇、L-精氨酸、L-缬氨酸、L-山梨糖、D-阿拉伯糖、乳酸盐为碳源;能利用硝态氮和铵态氮,并以利用铵态氮较好;不能还原硝酸盐,无脱氮作用,在无氮培养基上不能生长;接触酶阳性,氧化酶、脲酶、果胶酶、精氨酸双水解酶和色氨酸酶阴性;能产生果聚糖;液化明胶;水解七叶灵。不产生 H_2S 氨和吲哚。能使石蕊牛乳清化、变蓝。生长不受青霉素抑制,而受链霉素和氯霉素抑制。

3.3 野火病菌毒素

Johnson和 Murwin(1925)首次报道了野火病菌能分泌一种细菌毒素,被称为烟毒素(tabtoxin)^[7],这种毒素可以使烟叶产生褪绿晕圈。已经证实,烟毒素是一种二肽的毒素前体,可被水解成烟毒因 β -内酰胺(tabtoxinine β -lactam, T β L),同时释放出丝氨酸或苏

氨酸。T β L是一种谷氨酰胺合成酶(Glutamine synthetase, GS)的不可逆抑制剂,由于 GS参与释放氨的光呼吸再循环过程,因而 GS的被抑制导致了在光照下氨的快速聚集,破坏叶绿素的内膜系统,引起褪绿。也有人认为褪绿的直接原因在于 GS参与的合成途径的阻断以及光合作用的解耦联。这种毒素是非专化性的,它也能在非寄主植物叶片上引起晕圈症状,并且对其他的生物如细菌、藻类和哺乳动物有毒害作用。这种毒害作用是通过干扰蛋氨酸代谢,谷氨酸或 RN A代谢和/或某些代谢产物通过细胞膜来实现的^[1]。

野火病菌能在各种培养基上产生毒素。在 $20 \sim 25^\circ\text{C}$ 下,培养 24h 以后,即可产生一定量的毒素,但连续培养 18个月,常能分离出不产毒素的菌系。正是基于此,有人认为烟草角斑病菌是烟草野火病菌的自发 Tox 突变体。这表明烟毒素影响病害症状,但在病原与寄主的侵染过程中并非必需,只影响其致病性^[8]。

Braun及其助手们建立了提取和纯化烟毒素的方法,在此基础上, Woolley等提出了毒素的结构: α -羟丙酰氨 β -羟基 ϵ -氨基庚二酸内酯(α -lactylamino β -hydroxy ϵ -aminopimelic acid lactone)。Stewart通过核磁共振光谱分析推出了新的结构并得到了证实。研究表明,烟毒素的生物合成部分沿着赖氨酸途径进行^[9],在大多数菌株中毒素合成的基因位于染色体上,还有一些病原菌质粒上携有一些参与毒素生物合成的基因^[8]。

3.4 寄主范围

Goodman认为野火病菌的寄主范围十分广泛,包括 23个属的植物。后来病菌分泌毒素能引起典型症状这一现象的发现,又排除了一些植物。现试验已证实,除了自然寄主芥菜(*Capsella bursa pastoris* L.)、龙葵(*Solanum nigrum* L.)、稗(*Echinochloa crusgalli* L.)、蓼(*Polygonum hydropiper* L.)外,野火病菌还能侵染烟草、大豆、菜豆、豇豆、利马豆、豌豆、马铃薯、番茄、辣椒、茄子、黄瓜、白菜、曼陀罗等,而不能侵染大麦、小麦、高粱、蚕豆、甘蓝。

Rebeiro等发现从菜豆上和从烟草上分离的在细菌学性状上一致的野火病菌株系,在寄主范围上相差很大;葛莘等证实即使同一寄主上的不同株系,在寄主范围上也略有差异。这些现象表明野火病菌可能在烟草不同品种及不同寄主上有不同的菌系,存在着生理、病理分化现象。

3.5 寄主生理反应

野火病菌侵染烟草后,通过分泌毒素等来影响寄主,寄主也随之发生一系列生理反应,主要表现在:(1)呼吸速率增加 寄主细胞具有识别病菌的功能,并在20s内迅速做出反应,呼吸速率呈直线上升,且一直持续7h;(2)光合作用受阻 在用野火病菌毒素处理4h以后,烟草叶片细胞的叶绿体基粒片层膨胀,在间质中出现许多泡囊,叶片色素失去,尤其是叶绿素a、叶绿素a/b的比例下降,显示光化学的破坏;(3)物质代谢异常 病原产生大量的酶通过改变膜的透性和干涉蛋白质合成来破坏寄主代谢,导致干物质积累减少,可溶性糖和可溶性蛋白的含量下降,氨基酸量增加,RNA代谢受干扰,CTK的正常代谢受抑制^[10];(4)酶活性改变 如硝酸还原酶的活性降低,过氧化物酶活性明显提高;GS活性很快丧失^[11];核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶活性被抑制等。

4 流行病学

4.1 越冬与传播

烟草野火病菌可在病残体、杂草枯叶和某些烟草制品上越冬,许多学者认为这可能是最主要的初侵染源。但Valleau朱尊权等先后报道,野火病的主要初侵染源为自然条件下存在于其它作物、杂草、牧草根部的病菌。有人认为烟草种子不仅表面带有野火病菌,而且种皮内、胚乳均带病菌,是主要的初侵染源之一^[12],但以前却有报道明确指出,病菌在被侵染的种子内存活不会超过2y,并不是重要的初侵染源。可见野火病菌的越冬及初侵染问题,有待进一步明确。

在整个植株生长期,最重要的传播方式产生在风雨天气。昆虫(烟草叶甲 *Epitrix hirtipennis* Melsh)是可能的传播介体,但不是主要途径。病菌通常通过自然孔口和伤口侵染叶片,又以伤口侵染为主^[12]。病菌侵入后迅速扩散到细胞间隙,48h后病菌数量从指数生长转变为稳定期。此时病部产生菌脓,经雨水冲溅,引起再侵染。

4.2 影响病害发生的因素

4.2.1 气候因素 任何能够使大面积叶片湿润的气候条件有利于田间病害的迅速蔓延。每次降雨都出现一个发病高峰,湿度对病菌的侵染、传播和扩展也是极为重要的。湿度与降雨又密切相关,相对湿度随雨量和雨日而有变化,湿度大的天气,虽无雨也促进发病^[12]。

一般认为,28℃~32℃的高温条件有利于野火病的发生。事实上野火病菌对温度的适应性是十分广泛的,在烟草能正常生长的温度范围内,气温的高低对野火病是否发生或发生轻重影响并不大。

4.2.2 品种抗性 众所周知,抗性基因越多的烟草,细菌在其中的增殖就越少。据鉴定,目前生产上推广的烟草品种之间虽存在抗性差异,但不抗(耐)野火病或抗性很低,这是野火病流行的主要原因。

4.2.3 栽培因素 野火病的发生与流行和栽培措施有很大的关系。据王绍坤等介绍氮肥会降低烟株对野火病的抗性,而磷钾肥有提高烟株抗病性的作用。连作地比轮作地发病重,而且连作年限越长病情越重。此外,病情也与烟株长相有关,凡是落黄正常的烟株发病较轻,黑暴、落黄不正常的烟株发病都较重;长势比较差的烟株发病比较重。

4.2.4 其他因素 烟田受冰雹袭击后,叶片上产生大量伤口,病菌可迅速侵入,造成野火病大发生。金龟子、烟青虫、斜纹夜蛾的取食造成的伤口,也常使野火病菌顺利侵染,从而田间出现病虫害同时发生的现象。

5 防治学

5.1 抗病育种

国内外生产实践证明,利用抗病品种是防治野火病害最佳经济有效的途径。50年代以来,对烟草栽培品种(系)群体感病性差异的利用,育成了许多抗野火病的品种。而我国推广的烤烟品种长脖黄、NC82、G140、G28以及红花大金元等均不抗野火病^[2]。今后应进一步加强品种抗性鉴定、筛选优良抗源、选育优质抗病品种的工作。由于抗野火病的基因大多来自 *Nicotiana repanda* 和 *N. longiflora*,且抗病性是由单个显性基因控制的,这就要求在抗病育种中考虑到抗性丧失的可能。近年来,Ye zhaohui等人^[13-15]分别利用基因工程技术,从野火病菌中分离出抗烟毒素基因,并应用于抗病育种,为培育抗细菌病害植株提供了一条有效的途径。

5.2 农业措施

主要包括:与非寄主作物实行3年以上轮作;收集和销毁烟杆、烟杈、烟根、病叶及烟田已死亡的杂草,减少侵染源;选无病田或无病株留种,播种前进行种子消毒;培育无病壮苗;适期早栽,适当稀植,改善田间通风透光条件,降低田间小气候湿度;加强管理,N:P:K以

1 2 3配比使用,及时摘除易感病底脚叶,适时适度打顶,并做到按部位适时提早采收。

5.3 诱导抗性

在野火病的防治方面,人们对诱导抗性进行了许多有益的探索。先后有人用热杀死的野火病菌、野火病菌的无细胞提取物、TMV、烟草坏死病毒注射烟草,获得了对野火病系统的长期的抗性。研究表明,这种诱导抗性与寄主过氧化物酶显著增加及新的异构酶系的形成有关。

5.4 生物防治

由于化学残留、抗药性等问题的日益突出,人们开始重视对生防菌的筛选和使用。已经筛选出了对野火病菌有抑制作用的 *Bacillus* sp. M-83株系和对病菌有很高活性的放线菌类型 C-25, A/60c-7/2和 C-7/20,尤为鼓舞人心的是放射形野杆菌菌系 K84已在美国进入商品化应用。

5.5 化学防治

迄今为止,对细菌病害尚无高效药剂可用。经药效试验证实,细菌清 931(100g/kg)、农用链霉素(200单位/mL)、新植霉素(200单位/mL)、20%叶青双 500倍液、50%DT可湿性粉剂 400倍液或 50%DTM可湿性粉剂对防治野火病均有较好的效果。在田间点片发病早期,及时摘除病叶,并喷 1:1:160波尔多液,也有一定的防治效果。但由于已有部分野火病菌菌株对链霉素产生抗药性的报道,在施药时,应交替使用^[16]。

参考文献

1 Lucas G B. Diseases of Tobacco (3rd ed). Raleigh NC: BAC. 1975,397~ 409.

2 孔凡玉. 我国烟草侵染性病害发生趋势、原因及防治对策. 中国烟草, 1995(1): 31~ 34.

3 王绍坤. 烟草烘烤后野火病、赤星病病斑面积的变化研究. 中国烟草, 1992(1): 23~ 25.

(英文摘要见第 48页)

4 Faby P C et al. Plant bacterial Disease

5 葛莘,王吉长. 烟草野火病原细菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*) 的鉴定. 东北农学院学报, 1987, 18(4): 311~ 316.

6 葛莘. 烟草假单胞杆菌 (*Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*) 菌落的扫描电镜和微分干涉差显微镜观察. 东北农学院学报, 1988, 19(4): 354~ 359.

7 Turner J G and Taha R R. Contribution of tabtoxin to the pathogenicity of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. Physiological Plant Pathology, 1984, 25: 55~ 69.

8 赵卫东,刘进元. 烟草野火病菌的分子遗传. 生物工程技术, 1997, 17(2): 44~ 47.

9 Stewart W W. Isolation and proof of structure of wildfire toxin. Nature, 1971, 229: 174~ 178.

10 白宝璋,朱广发,谭桂茹,等. 烟草叶片感染野火病时的某些生理生化变化. 吉林农业大学学报, 1994, 16(2): 28~ 30.

11 Knight T J, Durbin R D and Langston-unkefer P J. Role of glutamine synthetase adenylylation in self-protection of *Pseudomonas syringae* subsp. *tabaci* from its toxin, tabtoxinine β -lactam. J. Bacteriol, 1986, 166: 224~ 229.

12 高洁,张佳环,迟明亮,等. 烟草野火病发病规律的研究. 吉林农业大学学报, 1997, 19(1): 8~ 15.

13 Batchvarova R, Nikolaeva V, Slavov S et al. Transgenic tobacco cultivars resistant to *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. Theoretical and Applied Genetics, 1998, 97(5-6): 986~ 989.

14 Ye Zhaohui, Yu Lihua, Zhao Nanming et al. Tabtoxin tolerance in transgenic tobacco plant expressing a tabtoxin resistant gene. Tsinghua Science and Technology, 1997, 2(1): 460~ 462.

15 Huang Y, Nordeen R O, Di M et al. Expressing of an engineered cecropin gene cassette in transgenic tobacco plants confers disease resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci*. Phytopathology, 1997, 87: 494~ 499.

16 袁美丽,高洁,张佳环,刘文生. 烟草野火病药剂防治研究. 吉林农业大学学报, 1994, 16(4): 18~ 23.

除钾和氮的绝对值外,正常烟叶和缺钾烟叶中 K / N 比列入表 1中。

表 1 不同烟叶部位鲜组织中 K / N 比		
组织部位	叶片	中脉
富钾烟叶		
叶尖	0. 99	3. 33
叶中部	1. 12	4. 90
叶基部	1. 26	5. 60
缺钾烟叶		
叶尖	0. 21	0. 35
叶中部	0. 20	0. 42
叶基部	0. 20	0. 61

富钾叶片组织与干叶基中钾的浓度范围在 2. 36% ~ 3. 92% 之间,而缺钾叶片组织与干叶基中钾

的浓度范围在 0. 62% ~ 0. 73% 之间。

缺钾烟叶 K / N 比在表中列出的数据表明,比任一富钾烟叶组织切片如叶片和中脉中的含量都少。烟叶组织中低的 K / N 比反映出含钾量较低,含氮量较高,使烟叶粗糙,烟气有刺激性。象这样 K / N 比的烟叶对卷烟配方者很有用。

正常烟叶中脉基部由于含钾量高,含氮量低,高 K / N 比可作为钾的增高剂和氮的稀释剂,是很好的混合型卷烟配方材料。另一方面,缺钾烟叶的中脉由于含钾量很低和低 K / N 比,不是良好的混合型卷烟材料。此外,Krishnamurthy 等人进一步证实,在富钾和缺钾烟叶中,中脉的含氮量比叶片低,而含钾量比叶片高。在混合型卷烟中包括中脉在内,改良 K / N 比,对提高卷烟的燃烧性和烟气质量起着重要作用。

(本文正文见第 34页)

Recent development in the study of tobacco wildfire disease

Zhang Guangmin¹ Lu Junhong^{1,2} Kan Guangfeng Wang Zhifa¹
1 Department of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Taian 271018
2 Shanghai Institute of Nuclear Research, CAS, Shanghai 201800

Abstract

This paper summarized research survey of tobacco wildfire disease on geological distribution, economical cost, symptom, host range, aetiology, epidemiology and its control.

Key words Tobacco Wildfire disease Survey