

# 植物青枯病菌细菌素的产生、性质及其利用\*

董 春 范怀忠

(华南农业大学资源环境学院 广州 510642)

关键词: 青枯菌, 细菌素

中图分类号: Q939 文献标识码: A 文章编号: 0253-2654(2000) 03-0302-03

细菌素(Bacteriocin)是细菌代谢过程中合成的、对同种或近缘种有特异性抑制作用的杀菌蛋白或多肽物质<sup>[1]</sup>。大多数植物病原细菌如放射农杆菌(*Agrobacterium radiobacter*)、密执安棒形杆菌(*Clavibacter michiganesis*)、软腐欧文氏菌(*Erwinia carotovora*、*E. chrysanthemi*)、丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*)、甘蓝黑腐黄单胞菌(*Xanthomonas campestris*)等都具有产生细菌素的能

力<sup>[2]</sup>。细菌素在细菌的分类、快速鉴定、病害流行和生物防治方面均有潜在的应用前景<sup>[2]</sup>。

青枯菌(*Ralstonia solanacearum*)是热带、亚热带和温带地区普遍发生的植物青枯病的病原菌,该菌能侵染 44 科数百种植物,包括马铃薯、番茄、烟草、茄、花生、

---

\* 广东省科学基金资助课题(No. 940360)

收稿日期: 1999-04-02, 修回日期: 1999-07-08

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

草莓、香蕉、桑、桉树、木麻黄、油橄榄等草本和木本植物<sup>[3]</sup>。青枯病菌是一个复杂的群体,有明显的生理分化,不同地区和不同寄主来源的菌株,在寄主范围、致病力、生化型、血清型等细菌学特性上差异很大<sup>[4]</sup>。通过 PCR-RFLP 等分子生物学手段也证明青枯菌种内具有显著的遗传多样性。

1954 年 Okabe 首次发现青枯菌株间有拮抗作用,有些菌株具有产生抑菌物质的能力<sup>[4]</sup>。对这种抗菌物质进行分析,证明它是一种含蛋白质的细菌素<sup>[5]</sup>。为了阐明青枯菌产生细菌素的机制,并探索利用青枯菌细菌素防治植物青枯病的可能性,国内外对青枯菌细菌素的产生和性质进行了大量而深入的研究。同时利用无致病力产细菌素青枯菌株防治番茄和烟草青枯病也取得了一定的成功。青枯菌产生细菌素(细菌产生细菌素)这一细菌学现象,在长期进化过程中必定有其特定的、尚未被完全认识的生物学意义。深入研究青枯菌细菌素及其产生的分子遗传机理,对于阐明细菌素的生物学功能具有重要的意义,同时也可能为青枯病的防治提供新的思路和开辟新的途径。本文简要介绍有关青枯菌细菌素的产生、性质及其在应用方面的研究进展。

1 青枯菌细菌素的产生

自 Okabe 首次发现青枯菌株间的拮抗作用及其产生抑菌物质的能力以来,国内外对于青枯菌株产生细菌素进行了许多研究。台湾 Chen<sup>[6]</sup>用 22 个指示菌测试了 149 个菌株的产细菌素情况,发现 121 个菌株能产生细菌素。谢道昕等<sup>[7]</sup>用马铃薯、花生、甘薯上分离的 17

个菌株作指示菌,测定了桑树、花生、甘薯和油橄榄上另外 17 个青枯菌株产细菌素能力,结果表明,所有测试菌株都能产生细菌素,只是抑菌谱不同,其中桑树菌株 M2、M5 具有较强的抑菌能力。张建华等<sup>[8]</sup>用来自不同小种和生化型的 8 个菌株作指示菌,测定了 211 个青枯菌株产细菌素能力,测定结果表明,大约 80% 的菌株能产生细菌素,其中油橄榄菌株 OE-104 和桑菌株 MA-1、MA-701 拮抗能力最强,拮抗范围最广。Arwiyanto<sup>[9]</sup>测定了 9 种寄主植物的 66 个青枯菌株的产细菌素能力,50% 的菌株能产生细菌素。作者对来自我国南方 15 种寄主植物的 135 个青枯菌株的产细菌素能力进行了测定,结果表明,能产生细菌素的菌株有 59 个,占总数的 43.7%。这些菌株产生的细菌素的专化性不同,其中番茄菌株 Tm3、烟草菌株 Tb30、桑树菌株 M1 和桉树菌株 Eul 都有较强的抑菌能力和较广的抑菌谱<sup>[10]</sup>。

综上所述,青枯细菌产生细菌素是普遍现象。

2 青枯菌细菌素的性质

细菌产生细菌素这一现象最早是在大肠杆菌(*E. coli*)中发现的,到目前为止,研究得最清楚的革兰氏阴性细菌的细菌素仍然是肠杆菌素(Colicin)<sup>[11]</sup>。典型的肠杆菌素具有如下基本特征:1)集中于同源小种的比较窄的抑菌谱;2)具有蛋白质性质;3)活性作用方式为杀菌作用;4)细菌素作用时吸附于敏感细菌的专化的细胞受体上;5)质粒决定细菌素的产生,且产素菌株自身免疫;6)致死因子(SOS)诱导释放<sup>[12]</sup>。大量的研究表明,青枯菌细菌素具有传统的大肠杆菌细菌素的基本特征(表 1)。

表1 不同青枯菌株细菌素主要特性比较

产细菌素菌株	B1	M2	A3-5	nOE-104	Pops8409
寄主植物	番茄	桑	烟草	油橄榄	马铃薯
抑菌谱	种内	种内	种内	种内	种内
蛋白质特性	+	+	+	+	+
对热敏感性	+	+	+	+	+
对蛋白酶敏感性	+	+	+	+	+
质粒编码	ND	-	ND	ND	ND
诱导合成	+	+	+	+	+
紫外线照射诱导	+	ND	-	-	+
丝裂霉素C诱导	-	ND	+	+	+
自身免疫	+	+	+	+	+
参考文献	[5]	[7]	[8]	[12]	[9]

“+”具有该属性,“-”不具有该属性,“ND”未测定

### 3 青枯菌细菌素的利用

**3.1 利用细菌素对青枯病进行生物防治** 用产细菌素菌株对植物细菌病害进行生物防治,一般要求这些菌株没有致病力。无毒菌株一方面可以从自然界直接分离得到,一方面可以从有毒菌株进行诱变或遗传改造。

利用无致病力产细菌素青枯菌株 (avirulent bacteriocin producing strains ABPS) MA-7 和 OE-104 在田间对番茄青枯病进行生物防治试验,用 ABPS 浸根处理,防病效果较好,处理比对照区发病始期推迟到 8~10d,番茄移栽两个月后,防效可达 69%~70%<sup>[14]</sup>。利用 ABPS 防治烟草青枯病也取得了较好的效果<sup>[15]</sup>。上述实验者还认为,ABPS 对寄主植物的保护作用主要是由细菌素介导的。

产细菌素青枯菌株还可望在下述几方面获得利用:1)利用不同寄主来源的产细菌素菌株进行生物防治;2)利用产细菌素菌株生产细菌素纯品或粗制品来进行生物防治;3)克隆青枯菌细菌素基因,通过基因工程获得转基因抗病植株。

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。芭蕉青枯菌株 Str-10 的无毒突变体能产生细菌素,番茄强致病菌株 T20 和 T11 分别对 Str-10 无毒突变体产生的细菌素敏感 (bacteriocin-sensitive) 和抗性 (bacteriocin-resistant),先用 Str-10 无毒突变体预接种番茄,再用 T20 和 T11 挑战接种,结果 Str-10 无毒突变体能显著降低 T11 和 T20 引起病害的严重程度。Str-10 无毒突变体对抗细菌素的 T11 菌株也有防病效果的实验结果表明,尽管 Str-10 能产生细菌素,但细菌素对于控制毒性菌株的致病作用可能是无关的。Str-10 能控制番茄青枯病可能是诱导了寄主的抗病性<sup>[16]</sup>。

**3.2 利用细菌素评价青枯菌种群动态** 普遍认为,细菌素在细菌种群动态中起重要作用。而产细菌素能力、对细菌敏感性以及对细菌素抗性都是用来评价细菌种群动态的有用特征。Frey<sup>[17]</sup>用细菌素特征将 24 个标准

青枯菌株和 65 个田间分离菌株分为 9 个群;同时用基因重复回文序列 PCR (REP-PCR) 和稀有切点酶切片电泳 (RC-PFGE) 分别将上述同样菌株分为 6 个群。比较细菌素、REP-PCR 和 RC-PFGE 3 种方法分群结果,表明它们具有高度的相关性。从而进一步表明青枯菌细菌素类型反映了田间青枯菌种群特征。作者认为,青枯菌细菌素很可能是引起这种田间青枯菌种群动态的原因之一。因此可以利用细菌素特征来研究青枯菌田间自然种群动态。

### 参 考 文 献

- [1] Echandi E. *Phytopathol*, 1976, **66**:430~432.
- [2] 吴健胜,王金生. *微生物学通报*, 1996, **23**:95~97.
- [3] 何礼远,康耀卫. *自然科学进展*, 1995, **5**(1):7~16.
- [4] Okabe N. *Rep Fac Agric Shizuoka Univ*, 1954, **4**:37~40.
- [5] Cupples D. *J Gen Microbiol*, 1978, **109**:295~303.
- [6] Chen W Y, Echandi E. *Plant Pathol*, 1984, **33**:245~253.
- [7] 谢道昕,范云六,何礼远. *微生物学报*, 1989, **19**(4):284~292.
- [8] 张建华,任欣正,方中达. *南京农业大学学报*, 1987, **10**(3):58~63.
- [9] Arwiyanto T, Goto M, Takikawa Y. *Ann Phytopathol Soc Japan*, 1993, **59**:114~122.
- [10] 董春,王金生,范怀忠. *华南农业大学学报*, 1999, **20**(3):23~26.
- [11] Jack R W, John R T, Ray B. *Microbiol Rev*, 1995, **59**(2):171~200.
- [12] 章健,任欣正. *南京农业大学学报*, 1993, **16**(4):63~67.
- [13] 任欣正,申道林,谢贻格. *南京农业大学学报*, 1993, **16**(1):45~40.
- [14] Arwiyanto T, Goto M M, Tsuyumu S. *Ann Phytopathol Soc Japan*, 1994, **60**:421~430.
- [15] Frey P, Smith J J, Albar L. *Appl Environ Microbiol*, 1996, **62**(2):473~479.