



# 植物病原细菌的细菌素

吴健胜 王金生

(江苏南京农业大学植保系, 南京 210095)

细菌素是一种细菌的某些菌系所产生的对该种细菌的另一些菌株或关系较近的细菌有杀伤作用, 非复制性的含蛋白的抗菌物质<sup>[1]</sup>。继1946年 Fredericq 报道大肠杆菌产生的大肠杆菌素(colicin)后, 植物病原细菌细菌素也得到广泛而深入的研究。本文就植物病原细菌细菌素的概念、形态结构、性质及应用等方面问题加以阐述, 内容不够全面, 不当之处请批评指正。

## 1 植物病原细菌细菌素的概念

植物病原细菌细菌素是植物病原细菌产生的一类复杂的异质群抑菌物质。从结构和组成来看, 有高分子量的蛋白质颗粒, 有低分子量的蛋白质物质, 也有小分子非蛋白的物质。从抑菌谱来看, 既有抑菌谱仅限于同种不同菌株间较窄类型, 也有跨种、跨属甚至跨类抑菌类型。从对热、胰蛋白酶的敏感性来看, 植物病原细菌细菌素有对胰蛋白酶不敏感但不耐热、耐热但对胰蛋白酶敏感、对热和胰蛋白酶全敏感、对热和胰蛋白酶全不敏感四种类型。由此看来, 传统的细菌素概念并不适用植物病原细菌细菌素。

高分子量类型植物病原细菌细菌素在形态、作用机制、遗传因子、免疫机制、诱导产生等方面与噬菌体很相似, 但两者有本质上的不同。噬菌体含有核酸和外壳蛋白, 能在敏感细胞中增殖生长, 因此是一类生物。植物病原细菌细菌素一般不含有核酸, 不能侵染敏感细胞并在内增殖, 本质上并不是生物。

## 2 植物病原细菌细菌素的形态结构、组成、性质、产生及其分子遗传学

首先就不同属植物病原细菌进行分述。

土壤杆菌属细菌细菌素有土壤杆菌素 84 (agrocin84)、土壤杆菌素 D286 (agrocin D286)、土壤杆菌素 J73 (agrocinJ73) 三种。土

壤杆菌素 84 是应用最成功的一种细菌素, 为腺嘌呤脱氧阿拉伯糖苷氨基磷酸盐, 属核苷酸类似物的一种小分子<sup>[2]</sup>。土壤杆菌素 84 能抑制具有胭脂碱型 Ti 质粒的农杆菌生物型 1、生物型 2。但农杆菌生物型 3 不受土壤杆菌素 84、土壤杆菌素 D286 的抑制, 而受到土壤杆菌素 J73 的抑制。寄生葡萄引起冠瘿病的农杆菌生物型 3, 对土壤杆菌素 J73 的敏感性不是由 Ti 质粒编码, 而是由染色体编码<sup>[3]</sup>。放射形土壤杆菌培养条件、培养基成份影响土壤杆菌素 84 的产生。据报道, 培养基中蛋白胨抑制土壤杆菌素 84 的产生。

假单胞菌属细菌细菌素包括丁香假单胞菌素 4A (syringacin 4A)、丁香假单胞菌素 W-1 (syringacin W-1)<sup>[4]</sup>和一些未定名的细菌素。丁香假单胞菌素 4A 是第一个被分离提纯并鉴定的植物病原细菌细菌素, 是 Hagg 和 Vidaver 在 1974 年正式报道。丁香假单胞菌素 4A 颗粒体呈“噬菌体”状, 能够收缩。丁香假单胞菌素 W-1 电镜下观察呈典型的棒状, 75nm×20nm, 由髓部和鞘部组成, 其组成蛋白质和糖分别占 67.2%和 32.8%。蛋白组份由丙氨酸、谷氨酸、甘氨酸等 16 种氨基酸组成。糖组份对丁香假单胞菌素 W-1 活性并非必需。丁香假单胞菌素 W-1 生物活性不及丁香假单胞菌素 4A。丁香假单胞菌素 4A 在 pH5.2~8.2, -20℃~40℃ 范围内比较稳定, 能抗蛋白酶和多种表面活性剂。高分子量假单胞菌属细菌细菌素除丁香假单胞菌素 4A、丁香假单胞菌素 W-1 呈噬菌体状类型外, 还有呈中空的球形蛋白颗粒类型如有些荧光假单胞菌。与丁香假单胞菌细菌素不同, 青枯假单胞菌细菌素为不能

沉降的低分子量类型。该细菌素不耐热,对蛋白酶敏感。最近,Arwiyanto 发现,高分子量类型青枯假单胞细菌素是由寄生土豆的青枯假单胞 POS8409 菌株产生的<sup>[5]</sup>。假单胞菌属细菌细菌素的产生可受紫外光和丝裂霉素 C 的诱导而加强。有些假单胞菌属细菌细菌素的产生及活性与产生菌分泌的胞外多糖有关<sup>[6]</sup>。Cuppels 等发现青枯假单胞菌不产生胞外多糖的无毒菌株 B1 与野生菌株 K60 相比,无论是固体培养还是液体培养都具有较强的产细菌素能力。假单胞菌属细菌细菌素除对胰蛋白酶敏感但耐热和不耐热但抗胰蛋白酶两种主要类型外,还存在对热、胰蛋白酶全敏感或全不敏感的细菌素类型,它们主要分布在丁香假单胞菌、菜豆萎蔫病假单胞菌,大豆疫病假单胞菌的有些菌株。

欧文氏菌属细菌细菌素有 Carotovora 等种类。Carotovora 为高分子量化合物,电镜下观察很像噬菌体尾部,由髓和鞘部组成,鞘长 160nm,直径 18.5nm,髓部直径 6nm,鞘可以收缩。Carotovora 在酸性和碱性条件下不稳定,可以为十二烷基磺酸钠所钝化,不耐热,对许多蛋白酶的水解作用都不敏感。胡萝卜欧文氏菌除产生不耐热的 Carotovora 外还能产生耐热的细菌素类型。菊欧文氏菌细菌素有高分子量颗粒、低分子量蛋白、小分子三种类型。高分子量菊欧文氏菌细菌素形态上与噬菌体尾部相似,抗胰蛋白酶,60℃ 下 10min 失活,可受紫外光、丝裂霉素 C 诱导。小分子菊欧文氏菌细菌素为生物碱类化合物,含有五种组份,抑菌谱很广。它性质稳定,耐酸碱、耐热。该细菌素在体内专一性吸附在 67ku 蛋白上,该蛋白与菊欧文氏菌这种小分子细菌素的运转与免疫有关。

棒杆菌属细菌细菌素多为低分子量可扩散的蛋白,耐热,对蛋白酶 K 等蛋白酶敏感<sup>[7]</sup>。该类细菌素抑菌谱较广,除抑制棒杆菌其它种外,还能抑制革兰氏阴性细菌。液体培养条件下棒杆菌细菌素产量较低,不受丝裂霉素 C 的诱导。

黄单胞菌属细菌细菌素研究主要涉及细菌素的产生及生防应用,对其分离纯化及鉴定工作未见报道。水稻白叶枯病菌、甘蓝黑腐病菌产生细菌素类似物。该物质耐热,对胰蛋白酶敏感,不能被丝裂霉素 C 和紫外光诱导。该物质分子量为 25ku,能被硫酸铵沉淀。柑桔溃疡病黄单胞菌用氯仿和 55℃ 热处理可产生对自身有显著抑制作用的细菌素类似物。该物质可透析,120℃ 加热不失活,对 DNA 酶、RNA 酶、胰蛋白酶、链蛋白酶不敏感。

综上所述,五个属植物病原细菌均能产生细菌素,但这些细菌素在形态及性质方面具有很大的异质性。当然,有些菌株细菌素在某些方面仍保持有一定的相似性。

植物病原细菌产生细菌素的最适温度与生长的最适温度并非一致,如棒杆菌、水稻白叶枯病菌、青枯假单胞菌等一些菌株。植物病原细菌细菌素一般由独立于植物病原细菌染色体之外的质粒所控制。控制土壤杆菌素产生的质粒 pAgK84 为 47.7kb 长的小质粒,其中约有 20kb 与土壤杆菌素 84 的产生有关<sup>[8]</sup>。土壤杆菌素 84 的合成可能涉及一系列复杂的生物合成途径,或有许多其它蛋白参与。但有证据表明植物病原细菌细菌素受染色体基因与质粒的双重调控。

### 3 植物病原细菌细菌素在植物病理学领域中的应用

#### 3.1 有效控制植物细菌病害

在讨论植物病原细菌细菌素生防功效之前先简述植物病原细菌细菌素对植物致病菌的作用机制。土壤杆菌素 84 可特异性结合在农杆菌壁膜间隙中的蛋白质上。这种特异性是由农杆菌的 Ti 质粒决定的,质粒编码一种或几种蛋白质转送土壤杆菌素 84 进农杆菌体内。土壤杆菌素 84 影响农杆菌高能运输系统的正常运行,干扰细胞的主动吸收,干扰 ATP 酶的作用,抑制 DNA 的合成。Carotovora 具有磷酸酯酶活性,影响植物致病欧文氏菌细胞膜的正常生理功能。

植物病原细菌细菌素防治植物细菌病害具

有适应病害生态系、维持有益生态平衡、不易产生抗性等优点。可采用产植物病原细菌细菌素的无毒菌株和纯化的细菌素本身二条途径。如采用产植物病原细菌细菌素的菌株必须是无毒的,无毒菌株有些直接分离,有些是从有毒菌株进行诱变。

早期应用放射形土壤杆菌 K84 菌株有效防治多种植物的冠瘿病。用 K84 菌液浸种、蘸根或浸种加蘸根,防效分别达 78.5%、94.9% 和 98.1%,在果树等多种植物上使用后,防效可持续两年。水稻白叶枯病菌化学诱变无毒菌株 AB1、AB2 在接种水稻白叶枯病菌和细条斑病菌后喷施处理,AB1 降低水稻白叶枯病发病率 66%~99%,降低水稻细条斑病发病率 4%~12%,AB2 降低水稻白叶枯病发病率 31%~76%,降低水稻细条斑病发病率 17%~20%<sup>[9]</sup>。除上述两例外,用草生欧文氏杆菌处理梨花防止梨火疫病病菌对梨花器的侵染,用梨火疫病病菌无毒菌株防治番茄溃疡病。随着基因工程的发展,植物病原细菌细菌素的生防功效将得到更有效的发挥和应用。为了克服放射形土壤杆菌 K84 菌株防效下降的问题,Kerr 等通过缺失 K84 菌株内小质粒上 5.7kb 长的 tra 基因以阻止土壤杆菌素 84 合成基因向农杆菌中转移,构建成功防治效果持久稳定的新菌株 K1026。将编码植物病原细菌细菌素的基因转移到定殖能力强的腐生菌中,是提高产细菌素无毒菌株与植物病原细菌竞争能力的有力手段。

植物病原细菌细菌素纯品或粗制品对植物细菌病害具有预防作用。在用菜豆疫病菌假单胞菌喷雾接种菜豆叶片之前喷洒丁香极毛杆菌素 4A 纯品,明显减少病斑数。丁香极毛杆菌素 4A 浸种处理,大豆疫病菌假单胞菌受到抑制,并且种子萌发率提高 20%。直接用产植物病原细菌细菌素无毒菌株防治植物细菌病害有不便之处如大多数植物病原细菌不耐旱、寿命短,必须低温贮藏、随制随用。因此具有一定稳定性的细菌素直接用于植病生防具有重要的应用价

值。

### 3.2 有助于植物病原细菌的分类鉴定及流行病学方面的研究

产荧光的假单胞菌是植物病原细菌一个大的类群。通过常规的细菌学实验很难区分该类的不同菌株。应用不同菌株产细菌素性状差异可将这类假单胞菌分为 16 个组,给流行病学研究带来了极大的方便。棒杆菌属、黄单胞菌属、欧文氏菌属某些菌株的分类必须借助其产细菌素特性。

### 3.3 有助于植物病原细菌致病机理的研究

植物病原细菌细菌素抗性菌株是研究植物病原细菌致病机理极有用的材料。Dominique 等分析低分子量菊欧文氏菌细菌素抗性菌株与野生菌株差异及其原因时发现,抗性菌株丧失致病性可能是因为影响菊欧文氏菌铁的运输<sup>[10]</sup>。

除上述这些应用外,有些植物病原细菌细菌素抑菌谱很广,不仅抑制植物病原细菌,还能抑制动物及人体致病菌甚至癌细胞。因此这些细菌素可以跨出植物病害领域,在人体疾病、癌症、兽医等方面的应用前景是十分诱人 and 乐观的,具有不可低估的开发潜力。

## 参 考 文 献

- [1] 王金生. 生物防治通报, 1985, 1(2): 36~40.
- [2] Vidaver A K. Plant Disease, 1983, 67(5): 471~474.
- [3] Webster. J. et al. Appl. Environ. Microbiol. 1986, 52(1): 217~219.
- [4] Smit M L, Vidaver A. Can J Microbiol, 1986, 32(3): 231~236.
- [5] Arwiyanto T, et al. Ann Phytopathol Soc Jpn. 1993, 59(2): 114~122.
- [6] Cupples D A, et al. J. Gen. Microbiol. 1978, 109(2): 295~303.
- [7] Gross D C, Vidaver A K. Can J Microbiol. 1979, 25(3): 367~374.
- [8] Cooksey D A, L W Moore, Phytopathol, 1982, 72(7): 919~921.
- [9] Sakthivel N, Mew T W. Can J Microbiol. 1991, 37(10): 764~768.
- [10] Dominique E. J of Bacteriol. 1985, 163(1): 221~227.