中图分类号: S532 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635(2016)04-0235-05

玉米、小麦、大豆根系水溶性分泌物对马铃薯枯萎病菌的影响

马志伟, 陈 慧, 蒙美莲, 曲延军, 胡 俊*

(内蒙古农业大学农学院, 内蒙古 呼和浩特 010019)

摘 要: 以玉米、小麦和大豆3种作物为试验材料, 利用水培法收集3种作物根系分泌物测定其对马铃薯枯萎病菌生长的影响。结果表明, 玉米、小麦和大豆的根系分泌物对马铃薯枯萎病菌菌丝生长、孢子萌发和孢子产量均具有一定的抑制作用, 尤其是玉米根系分泌物的抑制作用最为显著, 小麦根系分泌物次之, 而大豆根系分泌物的抑制效果较差。

关键词: 根系分泌物; 马铃薯枯萎病菌; 抑制作用

Effect of Corn, Wheat and Soybean Root Exudates on *Fusarium oxysporum* Infecting Potato

MA Zhiwei, CHEN Hui, MENG Meilian, QU Yanjun, HU Jun*

(College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010019, China)

Abstract: With corn, wheat and soybean, three crops as materials, root exudates were collected through hydroponics to measure how they affect the growth of *Fusarium oxysporum* infecting potato. The results showed that the root exudates of corn, wheat and soybean inhibited the growth of *F. oxysporum* mycelium, spore germination, and spore yield. The inhibitory effect of corn root exudates was the most significant. Wheat root exudates came in the second place and soybean root exudates were the least effective.

Key Words: root exudate; *Fusarium oxysporum*; inhibition effect

近年来随着马铃薯产业的发展, 马铃薯种植面积不断扩大, 难以轮作倒茬, 连作障碍是制约马铃薯生产可持续发展的重要因素。连作导致土壤环境恶化, 病虫害发生加重, 产量降低及品质下降等一系列问题。镰刀菌(*Fusarium oxysporum*)引起的马铃薯枯萎病是一种危害严重的土传病害, 该病在内蒙古马铃薯种植区逐年加重, 但目前缺乏有效的防治措施。据 Martyn 和 Hartz^[1]以及 Yoshihisa Homma 和夏正俊^[2]的研究报道, 利用太阳能晒田, 对减轻

枯萎病的发生有较好的效果。但由于内蒙古马铃薯种植区土地面积有限, 很难大面积翻耕土壤充分利用太阳能晒田。据王晓丽等^[3]的研究, 尿素做基肥可以减轻马铃薯枯萎病的发生, 且优于碳酸氢盐类和马铃薯专用肥做基肥的效果, 同时尿素处理的地块马铃薯产量最高; 起垄覆膜对马铃薯枯萎病也有一定的减轻作用。另外加强田间管理, 轮作倒茬, 及时清除病株, 促进植株健壮生长, 增强植株抗病力, 选育抗病品种等措施也可对马铃薯枯萎病起到

收稿日期: 2015-03-31

基金项目: 国家现代马铃薯产业技术体系建设岗位专家专项(nycyt-15; gwzj-20)。

作者简介: 马志伟(1989-), 男, 硕士研究生, 研究方向为马铃薯病害。

*通信作者(Corresponding author): 胡俊, 教授, 主要从事植物病害综合防治, E-mail: hujun6202@126.com。

一定防效^[4]。其中与非寄主作物合理轮作是防控此类土传病害的重要手段。

植物根系分泌物是指植物根系释放到周围环境中的各种物质, 其种类多, 含量差异大, 既有糖、蛋白质和氨基酸等初生代谢产物, 又有有机酸、酚类等次生代谢产物。许多研究表明, 根系分泌物与根际微生物之间有着密切的关系, 根系分泌物不仅为根际微生物提供所需能源, 而且也直接影响着根际微生物的种群结构、代谢和生长发育, 有时起促进作用, 有时也会起抑制作用^[5,6]。

目前国内外有关植物根系分泌物与马铃薯枯萎病菌关系的研究报道甚少。轮作倒茬是有效、环保、经济地防治马铃薯枯萎病的措施, 为选出适合与马铃薯轮作倒茬的非寄主作物, 本试验通过室内抑菌试验, 研究了玉米、小麦和大豆3种不同作物根系分泌物对马铃薯枯萎病菌(*F. oxysporum*)的影响, 揭示根系分泌物与病原微生物之间的关系, 对生产进行合理的轮作调控提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

供试作物: 玉米(‘平育11’)、小红麦、东北大豆。

供试病原菌: 尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)由内蒙古农业大学植物病理学实验室分离获得。

供试培养基: 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)和Bilay培养基。

1.2 试验方法

1.2.1 供试作物幼苗培养

挑选大小一致的种子用1‰高锰酸钾溶液处理20 min后用水冲洗2~3遍, 置于光照培养箱中进行催芽, 将芽长相近的种子播种在盛有无菌土的营养钵中室内培养, 每钵内播5粒种子, 每个品种培养10钵, 共50株。

1.2.2 作物根系分泌物的收集

根系分泌物收集采用自制的水培系统, 由塑料瓶、硬纸壳板构成。挖取生长30 d左右健康均一的植株幼苗, 尽量不伤根, 以蒸馏水洗根后移栽到培养系统中, 用硬纸壳板固定。每瓶20株, 共5瓶, 向瓶中加入适量无菌水使根系没入水中, 对根系进

行遮光培养, 振荡培养24 h经3层滤纸过滤后, 用蒸馏水将根系分泌液调节至鲜根重为10 mL/g, 再用0.22 μm滤膜过滤后密封, 置于4℃冰箱中保存备用。

1.2.3 作物根系分泌物对马铃薯枯萎病菌菌丝生长的影响

采用菌丝生长速率法测定。将含不同作物根系分泌物液等体积与已融化稍冷却的PDA培养基充分摇匀并迅速倒入直径为9 cm的培养皿中, 以含等体积的无菌水培养基作为对照, 每个处理重复4次。在平板中央接入直径为6 mm的菌饼, 置于25℃黑暗条件下培养, 生长第3 d开始测量菌落直径, 每天测量1次, 并计算抑制率。待对照菌落生长至培养皿边缘时, 停止测量。

抑制率(%) = (对照菌落直径 - 处理菌落直径) / 对照菌落直径 × 100

1.2.4 作物根系分泌物对马铃薯枯萎病菌孢子萌发的影响

挑取适量培养好的菌片放入小烧杯中, 加入少量无菌水, 搅拌, 将菌悬液用3层无菌纱布过滤, 摇匀后镜检, 调整孢子浓度, 使每个视野(40 × 10倍)约含20个孢子。

利用凹玻片孢子萌发法测定。在培养皿中放置2层滤纸, 上面摆放回形玻璃棒, 将凹玻片架在玻璃棒上, 121℃高压灭菌后, 无菌操作下向该培养皿中加入适量无菌水, 将等量的孢子悬液与根系分泌液混匀, 吸取混合液50 μL于凹玻片上, 25℃黑暗培养12 h在(40 × 10)倍下镜检病原菌孢子萌发情况, 重复4次, 每个重复检查10个视野, 最后计算出平均孢子萌发抑制率, 以无菌水培养作为对照, 以孢子芽管的长度超过孢子直径的一半为已萌发孢子。

孢子萌发抑制率(%) = (对照孢子萌发数 - 处理孢子萌发数) / 对照孢子萌发数 × 100

1.2.5 作物根系分泌物对马铃薯枯萎病菌孢子产量的影响

将培养的枯萎病菌菌落用无菌水冲洗于三角瓶内, 充分振荡摇匀, 用3层无菌纱布过滤得到其孢子悬浮液, 将孢子悬液浓度调至1 × 10⁵个/mL。

无菌条件下, 将根系分泌物用无菌过滤器(微孔滤膜, 孔径0.22 μm)过滤后与灭菌的Bilay液体培

培养基进行等体积混匀, 配成含根系分泌物的培养基, 每瓶培养基 50 mL, 对照加等体积无菌水混合。

取 1 mL 孢子悬液加入到含供试作物根系分泌物的 Bilay 培养基中, 25 ℃、120 r/min 振荡培养, 培养第 3 d 时用血球计数板测定产孢量。

2 结果与分析

2.1 不同作物根系分泌物对马铃薯枯萎病菌菌丝生长的影响

从表 1 中可以看出, 玉米、小麦和大豆 3 种作物根系分泌物处理的马铃薯枯萎病菌菌落生长直径显著低于对照, 对马铃薯枯萎病菌菌丝生长表现出明显的抑制作用, 但存在差异。玉米根系分泌物对马铃薯枯萎病菌菌丝生长的抑制效果最好, 处理 3 d 时抑制效果明显高于小麦和大豆, 抑制率为 51.27%, 且随着时间延长抑制作用增强, 处理 6 d

时抑制率达 61.75%。小麦根系分泌物处理 3 d 时抑制率为 30.48%, 处理 4 d 时抑制率最大, 为 32.37%, 随后抑制作用减弱。大豆根系分泌物处理 3 d 时抑制率为 25.17%, 处理 4 d 时抑制效果最好, 抑制率达 33.22%, 随后抑制效果降低, 6 d 时抑制率降到 23.26%。

2.2 不同作物根系分泌物对马铃薯枯萎病菌孢子萌发的影响

不同作物根系分泌物对马铃薯枯萎病菌孢子萌发的影响见表 2。在相同时间处理的条件下, 对照平均孢子萌发数为 26.25 个, 玉米、小麦和大豆根系分泌物处理的平均孢子萌发数分别为 11.33, 22.11 和 24.89 个, 3 种作物根系分泌物对病菌孢子萌发表现出不同程度的抑制作用, 玉米根系分泌物处理的孢子萌发抑制率高于小麦根系分泌物处理和大豆根系分泌物处理, 为 56.84%, 小麦根系分泌

表 1 玉米、小麦、大豆根系分泌物对马铃薯枯萎病菌菌丝生长的影响

Table 1 Effect of corn, wheat, soybean root exudates on mycelium growth of *F. oxysporum* infecting potato

处理 Treatment	3 d		4 d		5 d		6 d	
	菌落直径(cm)	抑制率(%)	菌落直径(cm)	抑制率(%)	菌落直径(cm)	抑制率(%)	菌落直径(cm)	抑制率(%)
	Colony diameter	Inhibition percentage						
CK	4.33 a	0	5.90 a	0	6.95 a	0	8.34 a	0
玉米 Corn	2.11 d	51.27	2.49 c	57.80	2.84 c	59.14	3.19 d	61.75
小麦 Wheat	3.01 c	30.48	3.99 b	32.37	5.00 b	28.06	6.12 c	26.62
大豆 Soybean	3.24 b	25.17	3.94 b	33.22	5.10 b	26.62	6.40 b	23.26

注: 处理平均值的多重比较采用 SSR 法, 平均值后具有不同小写字母表示 0.05 水平显著。下同。

Note: Means followed by different small letters in each column indicate significant difference at 0.05 level of probability as tested by SSR method. The same below.

表 2 玉米、小麦、大豆根系分泌物对马铃薯枯萎病菌孢子萌发的影响

Table 2 Effects of corn, wheat, soybean root exudates on spore germination of *F. oxysporum* infecting potato

处理 Treatment	平均孢子萌发数(No.) Number of germinated spores	萌发抑制率(%) Inhibition percentage
CK	26.25 a	0
玉米 Corn	11.33 c	56.84
小麦 Wheat	22.11 b	15.77
大豆 Soybean	24.89 a	5.18

误差线为标准误。处理平均值的多重比较采用SSR法, 平均值后具有不同小写字母表示0.05水平显著。

Means with different small letters indicate significant difference at 0.05 level of probability as tested by SSR method. Error bar is SE.

图1 不同作物根系分泌物对马铃薯枯萎病菌孢子产量的影响

Figure 1 Effect of different crop root exudates on spore production of *F. oxysporum* infecting potato

物处理的孢子萌发抑制率高于大豆根系分泌物处理, 为15.77%, 大豆根系分泌物处理孢子萌发抑制率仅为5.18%。

2.3 不同作物根系分泌物对马铃薯枯萎病菌孢子产量的影响

从图1可以看出, 经过3种作物根系分泌物处理培养的马铃薯枯萎病菌, 其孢子产量显著低于对照处理。当对照处理的孢子数达 9.24×10^6 个/mL时, 加入玉米、小麦、大豆3种作物根系分泌物的培养基孢子数分别为 0.15×10^6 , 1.41×10^6 和 3.20×10^6 个/mL, 且差异显著。说明玉米根系分泌物抑制马铃薯枯萎病菌产孢能力最强, 小麦根系分泌物次之, 大豆根系分泌物抑制效果最差。

3 讨论

研究表明, 玉米、小麦和大豆3种作物的根系分泌物, 对马铃薯枯萎病菌菌丝生长, 孢子萌发和孢子产量均有一定程度的抑制作用, 但3种作物根系分泌物的抑制效果之间存在差异, 其中玉米根系分泌物具有较强的抑菌活性, 小麦和大豆根系分泌物的抑制作用较弱。其可能是因作物种类不同根系分泌物中抑菌活性物质的含量或成分不同所致。

植物根系分泌物的种类及其含量与其生长环境相关^[7]。本试验中仅采用了无菌水做提取溶剂,

在人工环境下进行培养收集, 因而不可能将极性和非极性的活性物质全部提取出来。宋炜^[8]的研究结果表明, 万寿菊根不同溶剂粗提物对西瓜枯萎病菌菌丝生长均有一定抑制作用。陈磊^[9]所研究西芹鲜根不同浸提液对黄瓜枯萎病菌抑制作用中, 乙醇的效果最好, 其次是蒸馏水, 丙酮的抑制作用最差。不同的植物其产生的根系分泌物也不同, 吴蕾等^[10]在大豆与玉米、小麦、高粱根系分泌物的比较分析中表明, 大豆根系分泌物成分77种、小麦97种、玉米84种、高粱80种。玉米和烟草等植物根系分泌物的组成成分有着很大差异, 各种成分含量也都不同, 尤其是糖、有机酸以及氨基酸等^[11]。此外植物在不同生长阶段的根系分泌物也不相同, Kamilova等^[12]研究比较番茄、黄瓜和甜辣椒在3个不同的生长阶段有机酸和糖的渗出量, 表明3种蔬菜根系分泌物中有机酸和糖的总量随植物生长而增加, 并且有机酸组分均高于糖组分, 但不同植物种类和植物的不同发育阶段, 有机酸变化占主导地位。

根系分泌物中含有多种真菌刺激剂或引诱剂, 势必会对周围土壤微生物产生间接或直接的有害或有利的化感作用^[13]。因此可利用植物根系分泌物中的化感物质来抑制土壤中致病微生物的萌发和生长繁殖, 从而减轻植物病害。如

前作为大麻, 则几乎可以使马铃薯免遭晚疫病的侵害; 前作若为苜蓿, 可明显降低棉花枯萎病的发生; 前作若为车轴草, 亚麻的立枯病感染率则降低^[14]。

综上所述, 玉米、小麦和大豆3种作物的水溶性根系分泌物对马铃薯枯萎病菌的菌丝生长、孢子萌发和孢子产量均有良好的抑制作用。该研究结果为防治马铃薯枯萎病提供了一定的理论依据。但能否作为防治马铃薯枯萎病的倒茬作物, 还需进一步的田间验证。另外, 具有抑菌活性的物质尚需进行分离鉴定, 为更深入的研究防治马铃薯枯萎病提供新的思路。

[参 考 文 献]

[1] Martyn R D, Hartz T K. Use of soil solarization to control *Fusarium* wilt of watermelon [J]. *Plant Disease*, 1986, 70(8): 762-766.

[2] Yoshihisa Homma, 夏正俊. 日本土传病害防治现状(下) [J]. *世界农业*, 1993(6): 41-43.

[3] 王晓丽, 蒙美莲, 薛玉凤, 等. 马铃薯枯萎病初侵染来源及栽培与发病的关系 [J]. *中国马铃薯*, 2012, 26(3): 169-173.

[4] 何云龙, 谢桂先, 孙改革, 等. 土传病害防治的研究进展 [J]. *湖南农业科学*, 2012(6): 27-29.

[5] 朱丽霞, 章家恩, 刘文高. 根系分泌物与根际微生物相互作用研究综述 [J]. *生态环境*, 2003, 12(1): 102-105.

[6] 牟金明, 李万辉, 张凤霞, 等. 根系分泌物及其作用 [J]. *吉林农业大学学报*, 1996(4): 114-118.

[7] Wu Y X, Fang W P, Zhu S J, *et al.* The effects of cotton root exudates on growth and development of *Verticillium dahliae* [J]. *Cotton Science*, 2007, 19(4): 286-290.

[8] 宋炜. 万寿菊根提取物对西瓜枯萎病菌的抑菌活性成分研究 [D]. 晋中: 山西农业大学, 2005.

[9] 陈磊. 西芹根物质与挥发物对黄瓜枯萎病菌的化感作用、机理及化感物质分离纯化的研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2012.

[10] 吴蕾, 马凤鸣, 刘成, 等. 大豆与玉米、小麦、高粱根系分泌物的比较分析 [J]. *大豆科学*, 2009, 28(6): 1021-1025.

[11] Moscatiello R, Squartini A, Mariani P, *et al.* Flavonoid-induced calcium signalling in *Rhizobium leguminosarum* bv. *Viciae* [J]. *New Phytologist*, 2010, 188(3): 814-823.

[12] Kamilova F, Kravchenko L V, Shaposhnikov A L, *et al.* Organic acids, sugars, and L-tryptophane in exudates of vegetables growing on stonewool and their effects on activities of rhizosphere bacteria [J]. *Molecular plant-microbe interactions*, 2006, 19(3): 250-256.

[13] 梁文举, 张晓珂, 姜勇, 等. 根分泌的化感物质及其对土壤生物产生的影响 [J]. *地球科学进展*, 2005, 20(3): 330-337.

[14] 阎飞, 杨振明, 韩丽梅. 论农业持续发展中的化感作用 [J]. *应用生态学报*, 2001, 12(4): 633-635.

现有《中国马铃薯》杂志 2010, 2011, 2012, 2013, 2014 和 2015 年精装合订本, 中国马铃薯大会论文集 2011 年《马铃薯产业与科技扶贫》, 2012 年《马铃薯产业与水资源高效利用》, 2013 年《马铃薯产业与农村区域发展》, 2014 年《马铃薯产业与小康社会建设》, 2015 年《马铃薯产业与现代可持续农业》和 2016 年《马铃薯产业与中国式主食》, 每本定价 100 元。有需要的读者, 可通过邮局将书款汇至哈尔滨市东北农业大学《中国马铃薯》编辑部, 款到寄书。

联系电话: 0451-55190003