

根系分泌物在西瓜/旱作水稻间作减轻西瓜 枯萎病中的响应*

张宁^{1,2} 张如¹ 吴萍¹ 任丽轩^{1†} 徐国华¹

(1 农业部长江中下游植物营养与肥料重点实验室, 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

(2 江苏中烟工业有限责任公司, 南京 210019)

摘要 采用盆栽的方法, 研究了西瓜/旱作水稻间作对西瓜枯萎病和西瓜根系分泌物中酚酸、氨基酸、有机酸种类和含量的影响。结果表明: 与对照相比, 接种西瓜专化型尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, FON) 显著提高了西瓜根系分泌物中酚酸的含量, 增加了酚酸的种类如香豆酸, 当西瓜/旱作水稻间作时, 大部分酚酸的分泌量降低。在接种 FON 的条件下, 西瓜/旱作水稻间作较单作显著降低西瓜根系分泌物中酚酸含量。与对照相比, 接种 FON 提高了西瓜根系分泌中氨基酸的含量, 而在西瓜/旱作水稻间作条件下接种 FON 时, 西瓜根分泌物中氨基酸含量没有变化。与对照相比, 接种 FON 显著提高了西瓜根系分泌有机酸的量, 当西瓜/旱作水稻间作时, 大部分有机酸分泌量降低。在接种 FON 的条件下, 西瓜/旱作水稻间作较单作降低了西瓜根系分泌物中有机酸含量。总之, 接种 FON 提高了西瓜根系分泌酚酸、氨基酸和有机酸的量, 西瓜/旱作水稻间作降低西瓜枯萎病发病率和发病指数, 并维持西瓜根系分泌酚酸、氨基酸和有机酸的量不增加, 因此, 西瓜/旱作水稻间作减轻西瓜枯萎病与西瓜根分泌物的调节有关。

关键词 旱作水稻; 间作; 西瓜枯萎病; 根系分泌物; 酚酸; 氨基酸

中图分类号 Q945. 12 **文献标识码** A

随着我国农业的不断发展, 西瓜的种植面积越来越大, 连作障碍是西瓜生产的重要限制因素, 枯萎病是西瓜连作最主要的障碍因子。西瓜枯萎病是由西瓜专化型尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*, FON) 引起的土传病害^[1]。植物根系分泌物是植物和根际微生物相互作用的重要桥梁^[2], 其种类和含量的变化对根际微生物有重要的影响^[3]。连作时同一块地上连续种植同种作物, 特定的根系分泌物会刺激特种病原菌的生长, 从而引起土传病害的发生^[4]。一些常见的酚酸类物质如对羟基苯甲酸、阿魏酸和一些常见的氨基酸如甘氨酸、丙氨酸对西瓜专化型尖孢镰刀菌具有一定的促进作用^[5]。而一些植物品种又能够通过根系分泌物抑制土传病原菌和杂草的生长^[5]。Clarke 等^[6]已经通过突变体材料证实, 拟南芥在受到病原菌侵袭时产生水杨酸, 水杨酸作为信号物质启动植物的

抗性基因, 从而提高拟南芥的抗病能力。水稻根系分泌物可以抑制稻田杂草和某些真菌生长, 并在生育早期呈现出强烈的化感作用^[7]。且许多土著细菌和放线菌对水稻根系分泌物产生化学趋向并在水稻根系聚集^[8]。间作不仅可以改善植物的矿质营养, 还能改善根际土壤的微生物区系。杨平等^[9]的研究表明小麦根系分泌物可以改善黄瓜的生长环境, 提高黄瓜幼苗的抗病性和生物量。西瓜/旱作水稻间作时, 西瓜枯萎病发病率显著降低, 并且西瓜的根际细菌与放线菌数量显著提高, 而尖孢镰刀菌和真菌数量显著降低^[10]。郝文雅等^[5]对水稻、西瓜根分泌物的研究表明, 水稻根分泌物抑制尖孢镰刀菌的孢子萌发和孢子产生, 西瓜根分泌物促进尖孢镰刀菌的孢子萌发和孢子产生, 且水稻根系分泌的香豆酸能够有效抑制尖孢镰刀菌的生长和繁殖, 西瓜根系分泌的阿魏酸能够促进尖孢镰刀

* 国家自然科学基金项目(30871599)和农业部公益性行业科研专项(2012013007)资助

† 通讯作者, E-mail: lxren@njau.edu.cn

作者简介: 张宁(1987—), 男, 河北保定人, 硕士研究生, 主要从事西瓜/旱作水稻间作抗病生理机制研究。E-mail: 2010103167@njau.edu.cn

收稿日期: 2013-04-11; 收到修改稿日期: 2013-07-11

菌的生长和繁殖。此外,西瓜/旱作水稻间作时,水稻根系分泌物可能通过化感作用使西瓜根系产生应激反应,提高西瓜根系对枯萎病的抗性,从而进一步抑制枯萎病病原菌在西瓜根系的定殖。本文将研究西瓜/旱作水稻间作对西瓜根系和根际土壤尖孢镰刀菌的影响,以及间作减轻西瓜枯萎病时,西瓜根系分泌的酚酸、氨基酸和有机酸等化感物质成分和含量的变化,从而探讨西瓜/旱作水稻间作减轻西瓜连作枯萎病的机理。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

供试植物:西瓜,品种为早佳-8424 (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai cv. Zaojia-8424); 水稻,品种为 4007 (*Oryza sativa* L. cv. 4007)。

培养基质:黄沙和砂壤土的混合物(沙:土=2:1,m:m)。基质基本理化性质如下:有机质 8.10 g kg⁻¹;碱解氮 11.2 mg kg⁻¹;有效磷(Olsen P) 12.33 mg kg⁻¹;速效钾 36.3 mg kg⁻¹;pH(水:土=2:1) 7.1。黄沙和砂壤土分别风干然后过 2 mm 孔筛,γ射线灭菌。

病原菌菌种:西瓜专化型尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*)。从枯萎病西瓜植株分离^[11],用马铃薯液体培养基培养 1 周,用 4 层纱布过滤,将菌液稀释成 4 × 10⁶ CFU ml⁻¹。

1.2 试验设计及样品采集

试验设置 4 个处理:(1)西瓜单作(m-F);(2)西瓜单作并接种 FON(m+F);(3)西瓜/旱作水稻间作(i-F);(4)西瓜/旱作水稻间作并接种 FON(i+F)。各处理 5 次重复。在温室中盆栽培养,盆钵直径 25 cm,高 20 cm,每盆装 2.5 kg 基质。基肥施用量为:N(尿素) 200 mg kg⁻¹,Fe(EDTA-Fe) 5 mg kg⁻¹,Zn(ZnSO₄·7H₂O) 5 mg kg⁻¹。间作每盆定植水稻 1 穴(2 株),待水稻生长 2 周后移栽三叶期西瓜苗,每盆 2 株;单作每盆移栽 3 株。待西瓜生长 20 d 后,在西瓜根部灌根法接种病原菌菌液(孢子 4.0 × 10⁶ 个 ml⁻¹) 100 ml 盆⁻¹。5 d 后重复接种一次。西瓜移栽 45 d 后,单作接种 FON 处理的西瓜出现枯萎病症状,收获。

收获时,将西瓜植株从土壤中取出,用抖土法采集西瓜根际土,根系上附着的土壤为根际土壤,4 °C 保存用于尖孢镰刀菌计数。将西瓜苗和水稻苗

的根系用自来水反复冲洗干净,然后用去离子水冲洗。收集根系分泌物时,将盆中 1 株西瓜根系浸在盛有 100 ml 灭菌去离子水的黑暗密闭容器中收集^[11],在光照下收集 4 h,进行冷冻干燥,浓缩至干,用 1 ml 无菌水溶解,存放入 -20 °C 冰箱用于根分泌物成分测定。植株从收集液中取出后,称取地上部和地下部鲜重,然后烘干称重。另取 1 株西瓜苗,采集根系后 4 °C 保存,用于检测根系尖孢镰刀菌数量。

1.3 样品分析

1.3.1 枯萎病病情分级 西瓜枯萎病病情分级标准:0 级:植株生长正常;1 级:植株出现枯萎现象;2 级:植株一部分叶片和茎部出现枯萎;3 级:植株大部分叶片和茎部出现枯萎;4 级:植株枯萎死亡。发病率(%) = 发病株数/总株数 × 100。病情指数 = Σ(级数 × 该级株数)/(总株数 × 最高级数) × 100。防治效果(%) = (对照病情指数 - 处理病情指数)/对照病情指数 × 100。

1.3.2 西瓜根系和根际土中病原菌的分离计数

将西瓜根系剪成 1 cm 的小段,分别称量出 1 g 根段,置于 0.25% NaOCl 溶液中消毒 30 s,然后用无菌水冲洗 3 遍,再用研钵小心磨碎根段(加无菌水),配成一定比例的悬浮液,分别吸取 100 μl,涂于 *Fusarium* 选择性培养基^[12]上,4 d 后计数尖孢镰刀菌菌落数。

称取 5 g 根际土加 45 ml 灭菌水,振荡,吸取 0.1 ml 涂在 *Fusarium* 选择性培养基培养皿上,4 d 后计数尖孢镰刀菌菌落数。

1.3.3 酚酸、有机酸和氨基酸的测定 收集浓缩的根分泌物溶液,用 HPLC 测定酚酸、有机酸。采用 Agilent 1200 高效液相色谱仪分析酚酸种类和含量。酚酸测定采用色谱柱:XDB-C₁₈柱,柱温 40 °C,20 μl 进样量,280 nm 波长紫外检测,流速 0.8 ml min⁻¹。流动相:A 为甲醇,B 为 2% 乙酸。分离方法:B 100% (0 min)、60% (22.5 min)、60% (27.0 min)、37% (40.5 min)、37% (42.0 min)、25% (52.0 min)、0% (55.0 min)、0% (60.0 min) 进行梯度洗脱^[7]。根据保留时间测定根分泌物中酚酸类物质的种类,通过外标法计算各酚酸的含量。有机酸测定采用色谱柱:XDB-C₁₈柱,柱温 30 °C,10 μl 进样量,210 nm 波长紫外检测。流动相:A 为 5 mmol L⁻¹ 乙酸,B 为甲醇。分离方法:B 5% (0 min) 流速为 0.4 ml min⁻¹、10% (10 min) 流速为 0.4 ml min⁻¹、10% (15 min) 流速为 0.4 ml min⁻¹、10% (16 min) 流速

为 0.5 ml min^{-1} 、10% (20 min) 流速为 0.5 ml min^{-1} 进行梯度洗脱。根据保留时间测定根分泌物中有机酸的种类,通过外标法计算各有机酸的含量。所用酚酸和有机酸标准物质为分析纯化学试剂,液相色谱所用的流动相为色谱纯,试剂均购自 Sigma 公司。根系分泌物中氨基酸的分析采用氨基酸自动分析仪(日立 L-8900)。

1.4 数据处理

原始数据使用 Microsoft Excel 2003 进行处理,采用 SPSS 16.0 进行不同处理的方差分析和差异显著性检验,差异检验水平设 $p \leq 0.05$ 。

2 结 果

2.1 西瓜/旱作水稻间作对西瓜枯萎病的影响

西瓜移栽 40 d 后,单作接种病原菌的处理开始出现枯萎病症状,植株叶片萎蔫,茎部出现褐色腐

烂现象,最后死亡。表 1 表明在不同处理下西瓜干物质累积量显著不同。西瓜单作时,接种 FON 显著降低西瓜干物质的累积。在间作处理下西瓜干物质累积量较单作显著提高,接种 FON 则较单作显著降低。说明西瓜在感病状态下生长受到了影响,造成西瓜干物质累积量降低,间作时西瓜在感病情况下营养竞争较弱,造成西瓜干物质累积量降低。在自然土壤中也存在少量的尖孢镰刀菌,因此单作不接种 FON 时,西瓜也有少许的发病,西瓜/旱作水稻间作时,西瓜枯萎病的发病率和病情指数显著降低。在接种 FON 时,西瓜单作病情指数最高,有的西瓜苗已经死亡,而当西瓜/旱作水稻间作时,西瓜枯萎病的病情指数较单作接种 FON 处理降低了 35.7%。因此在一定的土壤尖孢镰刀菌数量水平下,西瓜/旱作水稻间作可以有效降低西瓜枯萎病的病情指数,有效抑制西瓜枯萎病的发生。

表 1 西瓜/旱作水稻间作对西瓜枯萎病的影响

Table 1 Effect of watermelon/upland rice intercropping on watermelon wilt disease

处理 Treatment	干重 Dry weight (g)	发病率 Incidence of disease (%)	病情指数 Disease index	防治效果 Control effect (%)
m-F	$3.8 \pm 0.3b$	$13.3 \pm 18.3bc$	$0.67 \pm 0.91c$	—
m + F	$3.3 \pm 0.2c$	$60.0 \pm 14.9a$	$7.00 \pm 1.29a$	—
i-F	$4.5 \pm 0.2a$	$6.7 \pm 14.9c$	$0.50 \pm 1.12c$	92.9
i + F	$2.0 \pm 0.2d$	$40.0 \pm 10.9ab$	$4.50 \pm 1.09b$	35.7

注:平均值 \pm 标准差。m-F,单作不接种 FON;m + F,单作接种 FON;i-F,间作不接种 FON;i + F,间作接种 FON。同一列有相同字母的表示处理 Tukey 检验 ($p \leq 0.05$) 差异不显著。下同 Note: Data are expressed as Means \pm SD of triplicate assays. m-F stands for monocropping without FON; m + F for monocropping with FON; i-F for intercropping without FON; and i + F for intercropping with FON. Data in the columns affixed with the same letters are not significant in difference by Tukey test method at $p \leq 0.05$. The same below

2.2 西瓜/旱作水稻间作对西瓜根系和根际土尖孢镰刀菌的影响

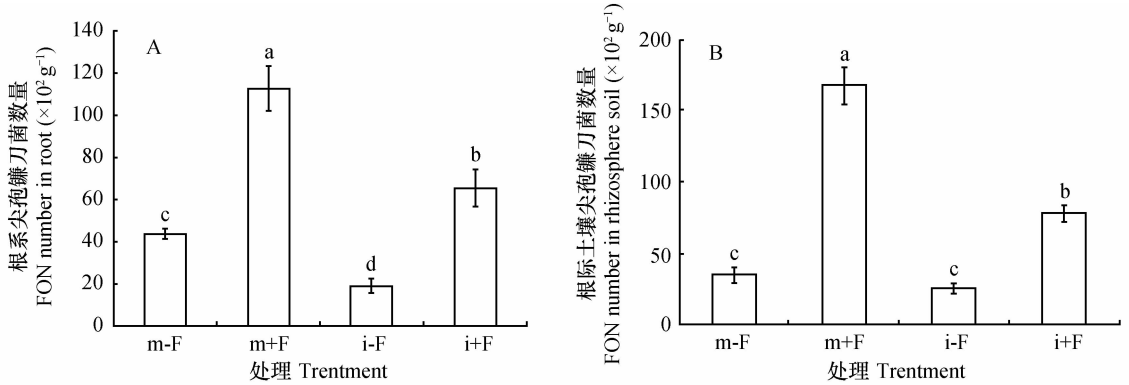
西瓜无论单作还是间作,在接种 FON 后西瓜根系尖孢镰刀菌数量均显著增加(图 1A)。西瓜/旱作水稻间作时,接种和不接种 FON 西瓜根系尖孢镰刀菌数量均显著降低。说明土壤中存在大量的尖孢镰刀菌时,西瓜/旱作水稻间作仍然能够显著降低尖孢镰刀菌对西瓜根系的侵害。图 1B 表明,无论单作还是间作,在接种 FON 后西瓜根际土中尖孢镰刀菌数量均显著增加。间作接种 FON 较单作接种 FON,西瓜根际土中尖孢镰刀菌数量显著降低。说明西瓜/旱作水稻间作能够显著降低西瓜根际土中尖孢镰刀菌的数量。

2.3 西瓜/旱作水稻间作对西瓜根系分泌物中酚酸种类和含量的影响

图 2 表明,西瓜单作时,接种 FON 显著提高西瓜根系分泌物中各种酚酸含量,而西瓜/旱作水稻间作时接种 FON,西瓜根系分泌酚酸的量均较单作处理显著降低。当单作西瓜接种 FON 时,西瓜根系分泌物中水杨酸含量显著升高。间作接种 FON 时,西瓜根系分泌水杨酸的量则显著降低。单作不接种 FON 时,西瓜根系分泌物中未检出苯甲酸,接种 FON 诱导了西瓜根系分泌苯甲酸,而且与单作相比,间作时根系分泌苯甲酸的量显著降低。作为酚酸类物质的第一产物,肉桂酸在西瓜根系分泌物中的含量受西瓜根系侵染尖孢镰刀菌的影响,单作接

种 FON 时,根系分泌物中肉桂酸含量最高,间作接种 FON 时,分泌量有所降低。西瓜单作时,根系分泌物中香豆酸未检出,这与前期的液培结果一致^[5],间作时促进了西瓜根系分泌香豆酸,且香豆酸含量与西瓜根系尖孢镰刀菌数量呈正相关。西瓜根系分泌的阿魏酸在单作接种 FON 的处理中显

著提高,间作时,根系分泌阿魏酸的量显著降低,因此,西瓜根系分泌阿魏酸与西瓜感染枯萎病有关。说明 FON 对西瓜的感染,刺激了西瓜根系对酚酸的分泌,而当西瓜/旱作水稻间作时,缓解了尖孢镰刀菌对西瓜根系的刺激,也降低了西瓜根系分泌酚酸的应激反应,根系分泌酚酸的量降低。



注: m-F, 单作不接种 FON; m+F, 单作接种 FON; i-F, 间作不接种 FON; i+F, 间作接种 FON。有相同字母的表示处理间 Tukey 检验 ($p \leq 0.05$) 差异不显著, 误差线为标准差。下同 Note: m-F stands for monocropping without FON; m+F for monocropping with FON; i-F for intercropping without FON; and i+F for intercropping with FON. Data in the same column with the same letters are not significant in difference by Tukey test method at $p \leq 0.05$. Error bar is standard deviation. The same below

图 1 西瓜/旱作水稻间作对西瓜根系和根际土尖孢镰刀菌的影响

Fig. 1 Effect of watermelon/upland rice intercropping on *Fusarium oxysporum* in watermelon root and rhizosphere soil

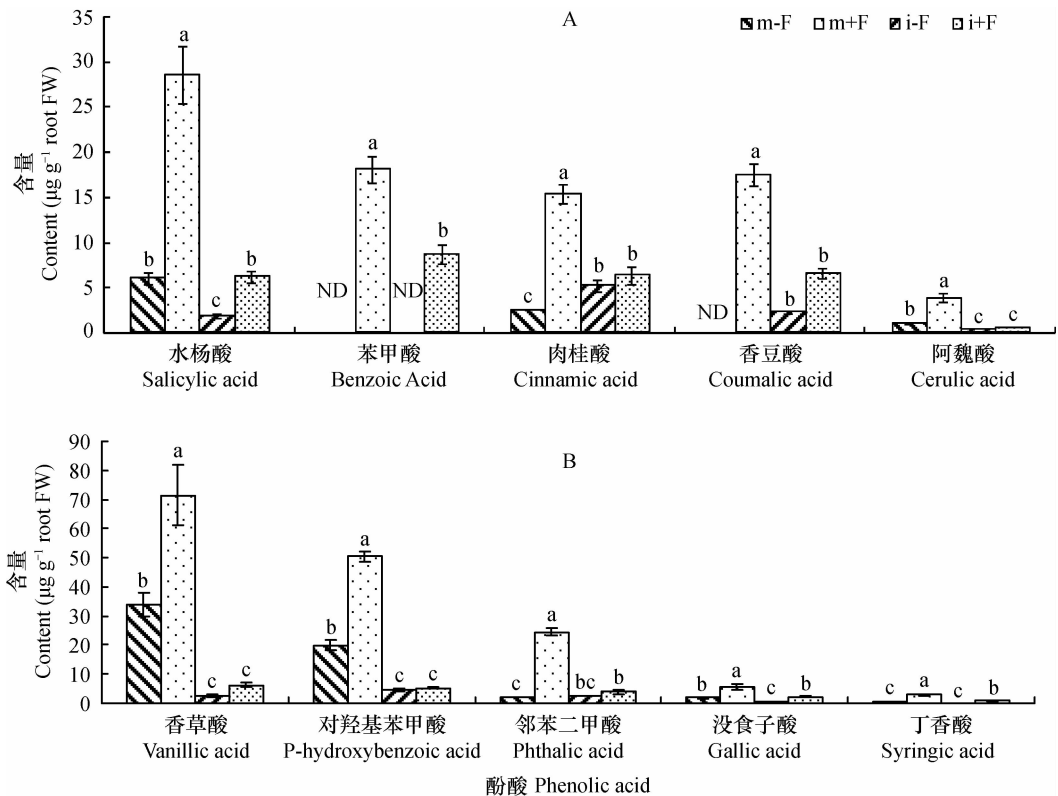


图 2 不同处理下西瓜根系分泌物中酚酸类物质含量

Fig. 2 Effect of watermelon/upland rice intercropping on content of phenolic acids in watermelon root exudates

在单作接种 FON 处理中其他酚酸,如香草酸、对羟基苯甲酸、邻苯二甲酸、没食子酸等的含量较不接种 FON 处理下显著提高。在接种 FON 条件下间作西瓜根系分泌物中大部分的酚酸含量较单作西瓜显著降低。说明单作西瓜在接种 FON 后根系分泌物中酚酸含量显著提高,在间作条件下这种情况有所缓解。

2.4 西瓜/旱作水稻间作对西瓜根系分泌物中氨基酸含量的影响

表 2 表明,西瓜单作时,接种 FON 显著提高西瓜根系分泌物中除丝氨酸外的各种游离氨基酸含量。在不同的处理中西瓜分泌脯氨酸有显著的不同,在间作处理下西瓜根系分泌物中未检出脯氨酸,仅在单作条件下,分泌物中有脯氨酸,且分泌物中脯氨酸的量在接种 FON 时显著提高。在不同处理中西瓜分泌丝氨酸有显著的不同,在接种 FON 时,西瓜根系分泌物中未检出丝氨酸,仅在不接种 FON 时,西瓜根系分泌物中检出丝氨酸,且在间作

处理下分泌物中丝氨酸的量显著降低。

在单作接种 FON 处理中其他氨基酸,如谷氨酸、丙氨酸、天冬氨酸、亮氨酸、缬氨酸、甘氨酸等的含量较不接种 FON 处理下显著提高。间作接种 FON 处理下根系分泌物中除丝氨酸外各种氨基酸含量较单作接种 FON 处理均显著降低。说明单作西瓜在接种 FON 后根系分泌物中氨基酸含量显著提高,在间作处理下这种情况有所缓解。

2.5 西瓜/旱作水稻间作对西瓜根系分泌物中有机酸含量的影响

西瓜单作时,接种 FON 显著提高西瓜根系分泌物中各种有机酸含量(图 3)。间作处理接种 FON 后西瓜根系分泌物中各种酚酸含量没有显著变化。在接种 FON 条件下,间作西瓜根系分泌物中各种有机酸含量较单作西瓜均显著降低。说明单作西瓜在接种 FON 后根系分泌物中有机酸含量显著提高,在间作条件下有所缓解。

表 2 西瓜/旱作水稻间作对西瓜根系分泌物中氨基酸含量的影响

Table 2 Effect of watermelon/upland rice intercropping on content of free amino acids in watermelon root exudates ($\mu\text{g g}^{-1}$ root FW)

氨基酸 Amino acid	处理 Treatment			
	m-F	m + F	i-F	i + F
谷氨酸 Glutamate	40.3 ± 4.3c	653.8 ± 96.8a	6.4 ± 0.3c	180.3 ± 24.5b
丙氨酸 Alanine	30.8 ± 3.9b	429.1 ± 117.2a	1.3 ± 0.5b	2.4 ± 1.2b
天冬氨酸 Aspartic count	42.6 ± 2.7b	157.5 ± 26.6a	5.9 ± 0.2c	12.3 ± 2.4bc
亮氨酸 Leucine	14.9 ± 2.3b	126.9 ± 32.4a	0.7 ± 0.1b	1.3 ± 0.4b
缬氨酸 Valine	14.3 ± 2.6b	107.3 ± 26.1a	2.8 ± 0.4b	5.2 ± 1.8b
甘氨酸 Glycine	9.2 ± 1.0b	107.8 ± 8.1a	0.7 ± 0.1b	6.0 ± 1.0b
精氨酸 Arginine	6.1 ± 0.8b	88.6 ± 23.9a	0.2 ± 0.1b	0.6 ± 0.07b
异亮氨酸 Isoleucine	10.3 ± 2.9b	81.2 ± 12.5a	0.4 ± 0.1b	0.7 ± 0.2b
苯丙氨酸 Phenylalanine	7.9 ± 2.1b	72.3 ± 20.6a	0.5 ± 0.1b	1.5 ± 0.4b
赖氨酸 Lysine	9.7 ± 1.3b	58.8 ± 7.6a	0.4 ± 0.02b	0.7 ± 0.1b
半胱氨酸 Cysteine	3.3 ± 0.5b	36.4 ± 7.5a	1.1 ± 0.1b	6.0 ± 1.6b
脯氨酸 Proline	2.0 ± 0.4b	33.5 ± 1.4a	ND ¹⁾	ND
组氨酸 Histidine	1.5 ± 0.2b	29.3 ± 3.9a	0.1 ± 0.02b	0.4 ± 0.35b
酪氨酸 Tyrosine	4.6 ± 1.0b	19.0 ± 3.3a	1.0 ± 0.05b	1.6 ± 0.1b
甲硫氨酸 Methionine	0.4 ± 0.1b	16.6 ± 3.9a	0.2 ± 0.05b	0.4 ± 0.1b
丝氨酸 Serine	3.5 ± 1.2a	ND	0.2 ± 0.05b	ND

1)ND,未检出 Not detected

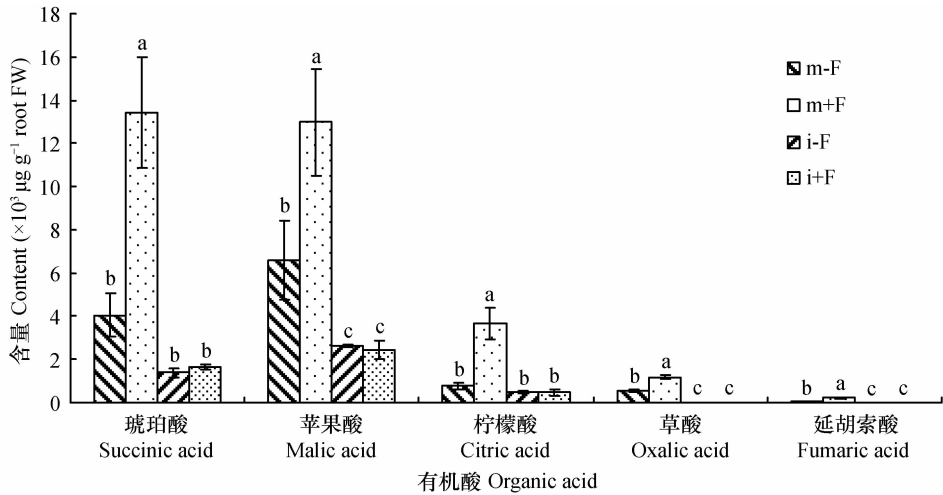


图3 西瓜/旱作水稻间作对西瓜根系分泌物中有机酸含量的影响

Fig. 3 Effect of watermelon/upland rice intercropping on content of organic acids in watermelon root exudates

3 讨论

3.1 植物根际环境变化对根系分泌物的影响

植物根系分泌物响应根际环境的变化,当植物根系受到生物胁迫或者非生物胁迫时,根系分泌物种类和数量都会发生相应的变化。当植物处于缺磷的环境时,根系分泌物中的总氨基酸的量显著提高,草酸、酒石酸、柠檬酸和苹果酸的量也显著提高^[11,13]。丛枝菌根真菌的侵染可以调节因缺磷而引起的根系分泌物中氨基酸的提高,说明植物根系分泌物中氨基酸、有机酸量的提高是植物受环境胁迫产生的应激反应。苯丙氨酸解氨酶(*PAL*)基因是植物抗性相关基因,植物抗病能力提高时,体内该基因的表达增强。研究表明,*PAL-2-1*基因表达引起水稻根系分泌物中酚酸含量的降低,说明植物抗病能力与根系分泌酚酸的量密切相关^[14]。本研究结果表明西瓜受到病原菌感染时,引起根系分泌物中的酚酸、氨基酸和有机酸的量提高2~40倍,当西瓜/旱作水稻间作时,西瓜枯萎病病原菌引起的根系分泌酚酸、氨基酸和有机酸的量均有所缓解,一方面可能是西瓜旱作水稻间作降低了根际环境病原菌的数量,缓解了病原菌对西瓜根系的伤害,从而减弱了西瓜根系对生物胁迫的应激反应。另一方面,可能是旱作水稻根分泌物的化感作用,引起西瓜根系抗病能力的提高,从而降低了西瓜根系分泌酚酸、氨基酸和有机酸的量。确切的机制有待于进一步的试验证实。

3.2 植物根分泌物的改变与抗病能力的关系

不同植物的根系分泌物对根际病原菌的生长

有不同的影响^[15-16]。酚酸类物质广泛存在于植物的根系分泌物中,香豆酸是根系分泌物中抑菌化感物质^[5],其他的一些酸大都有促进尖孢镰刀菌孢子萌发和产孢的作用^[17]。水稻根分泌物中的香豆酸显著抑制尖孢镰刀菌的孢子萌发和孢子产生,水稻根分泌物中没有检测到阿魏酸^[15-16]。西瓜根系分泌的阿魏酸显著促进 *FON* 的生长和繁殖,阿魏酸在水稻根分泌物中没有被检测到^[15-16]。因此,植物分泌的酚酸类物质,如香豆酸、阿魏酸影响着西瓜枯萎病的发生。本研究表明,病原菌侵染提高了西瓜根分泌物中各种酚酸的含量,如阿魏酸、水杨酸、肉桂酸,也增加了酚酸的种类,如香豆酸、苯甲酸。植物根分泌的酚酸可以调节根际微生物区系,促进根际细菌的生长,当植物受到病原菌侵袭时,植物也通过调节根分泌物而保护自身不受侵害^[18]。所以酚酸种类和含量的提高,可能正是植物自身的保护性反应。间作和轮作均可以影响植物根际微生物区系,抑制植物病害的发生^[19],杨阳等^[20]的研究证实间作处理下洋葱根系分泌物可以提高黄瓜根际养分,增加黄瓜根际土壤细菌和放线菌的数量,降低真菌和尖孢镰刀菌的数量,从而降低病害,提高产量。西瓜/旱作水稻间作系统能够降低西瓜枯萎病的病情指数,增加防御效果,抑制西瓜根际病原菌的生长,显著降低西瓜根际土中尖孢镰刀菌数量^[10]。本研究结果与以上结果相一致,间作接种 *FON* 较单作接种 *FON*,西瓜根系分泌物中酚酸含量均显著降低,说明西瓜/旱作水稻间作一方面改变了微生物区系,降低了西瓜根际尖孢镰刀菌数量,另一方面也缓解了因 *FON* 刺激而提高的根系分泌

物中酚酸的含量。

植物根系分泌的氨基酸为微生物提供了丰富的碳源和氮源,在根系分泌物中的含量较高。已有研究表明根系分泌物中的氨基酸可以促进病原菌的生长和繁殖^[21],不同的氨基酸对病原菌的促进作用不同。不仅如此,当植物受到非生物胁迫时,根系分泌的氨基酸含量,如精氨酸、酪氨酸、甲硫氨酸等显著升高^[22],因此氨基酸的大量分泌很可能是植物受到胁迫时的应激反应,而且与植物自身抗性密切相关。本试验结果表明,当植物受到 FON 胁迫时,西瓜根系对各种氨基酸,如脯氨酸、精氨酸、谷氨酸等 15 种氨基酸的分泌量均显著升高。而间作接种 FON 处理西瓜根系分泌的氨基酸的量却没有升高,而且天冬氨酸显著降低,脯氨酸未检出。众所周知,植物体内脯氨酸含量的提高与植物抗病性密切相关^[23],因此,间作接种 FON 处理西瓜根系分泌的游离氨基酸不升高,而且不分泌脯氨酸,很可能是因为间作系统减缓了 FON 对西瓜根系的侵染,植物自身调节了物质和能量的分配,不提高氨基酸的形成和分泌。植物受到胁迫时,根系分泌有机酸的量,如草酸、苹果酸、酒石酸等显著提高^[22,24]。本试验结果表明,单作西瓜受到生物胁迫时其根系分泌物中有机酸的含量显著提高,间作处理下无论接种和不接种 FON,西瓜根系分泌物中有机酸的含量均显著低于单作处理。因此,植物根系有机酸的分泌可能与植物抗性有关,从改变根际酸性环境方面抑制病原菌的生长,而在间作环境中并不通过提高有机酸的分泌来抑制病原菌的生长。

间作处理下旱作水稻根系分泌物抑制西瓜枯萎病原菌尖孢镰刀菌的生长和繁殖,调节西瓜根际的微生物区系,引起西瓜根际形成健康型的微生物区系^[10],并改善西瓜的矿质营养^[25]。本试验结果表明,间作处理下西瓜根系定殖的尖孢镰刀菌数量显著低于单作,而根际土壤中尖孢镰刀菌的数量差异不显著,说明间作西瓜较单作西瓜的根系有更强的抗病菌定殖的能力,很可能是由其根分泌物中化感物质成分和含量的变化引起的。间作系统具有减轻西瓜枯萎病的效果^[26],其作用机理有水稻根系分泌物对西瓜根际环境的改善^[26],而且水稻根系分泌物中特有的香豆酸起着重要的作用^[5]。本研究从西瓜根际微生物环境和西瓜自身应激反应两个方面探讨了西瓜/旱作水稻间作减轻西瓜枯萎病的机理,从根系分泌物的变化到根系定殖尖孢

镰刀菌的数量,都反映了在间作时西瓜自身的抗病能力有了提高,为下一步研究间作诱导西瓜抗病相关蛋白的表达奠定了基础。

4 结 论

西瓜/旱作水稻间作系统改善了西瓜的根际环境,降低了西瓜枯萎病的病情指数,减少了根系分泌物中酚酸的种类,降低了根系分泌物中酚酸、有机酸和游离氨基酸的含量。根系分泌物的变化可能与西瓜植株抗病能力的改变有关。

致 谢 感谢南京农业大学资源与环境科学学院 10 级郝鑫、园艺学院 10 级解柠亦同学在试验期间的帮助。

参 考 文 献

- [1] Hao W Y, Ren L X, Ran W, et al. Allelopathic effects of root exudates from watermelon and rice plants on *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Plant and Soil*, 2010, 336(1/2): 485—497
- [2] Bais H P, Park S W, Weir T L, et al. How plants communicate using the underground information superhighway. *Trends in Plant Science*, 2004, 9(1): 26—32
- [3] Bais H P, Weir T L, Perry L G, et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, 57: 233—266
- [4] 邹丽芸. 西瓜连作障碍中自毒作用的研究. 杭州: 浙江大学, 2004. Zou L Y. Study on autotoxicity in continuous cropping obstacle of watermelon plant (In Chinese). Hangzhou: Zhejiang University, 2004
- [5] 郝文雅, 冉炜, 沈其荣, 等. 西瓜、水稻根分泌物及酚酸类物质对西瓜专化型尖孢镰刀菌的影响. *中国农业科学*, 2010, 43(12): 2443—2452. Hao W Y, Ran W, Shen Q R, et al. Effect of root exudates from watermelon, rice plants and phenolic acids on *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum* (In Chinese). *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(12): 2443—2452
- [6] Clarke S M, Luis A J M, Jacqueline E W, et al. Salicylic acid dependent signaling promotes basal thermotolerance but is not essential for acquired thermotolerance in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 2004, 38(3): 432—447
- [7] Kong C H, Wang P, Gu Y, et al. Fate and impact on microorganisms of rice allelochemicals in paddy soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2008, 56(13): 5043—5049
- [8] Bacilio-Jimenez M, Aguilar-Flores S, Ventura-Zapata E, et al. Chemical characterization of root exudates from rice (*Oryza sativa*) and their effects on the chemotactic response of endophytic bacteria. *Plant and Soil*, 2003, 249(2): 271—277
- [9] 杨平, 吴凤芝. 不同化感效应的小麦根系分泌物对黄瓜幼苗生长及根系生理生化特性的影响. *中国蔬菜*, 2012(4): 37—42. Yang P, Wu F Z. Effects of root aqueous extracts of wheat cultivars with different allelopathy potential on cucumber seedlings

- growth and physiological and biochemical characters of cucumber root (In Chinese). *China Vegetables*, 2012, 41(4):37—42
- [10] 苏世鸣,任丽轩,霍振华,等. 西瓜与旱作水稻间作改善西瓜连作障碍及对土壤微生物区系的影响. *中国农业科学*, 2008, 41(3):704—712. Su S M, Ren L X, Huo Z H, et al. Effects of intercropping watermelon with rain fed rice on *Fusarium* wilt and the microflora in the rhizosphere soil (In Chinese). *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(3):704—712
- [11] Graham J H, Leonard R T, Menge J A. Membrane-Mediated decrease in root exudation responsible for phosphorus inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation. *Plant Physiology*, 1981, 68(3):548—552
- [12] Komada H. Development of a selective medium for quantitative isolation of *Fusarium oxysporum* from natural soil. *Review of Plant Protection Research*, 1975, 8:114—124
- [13] 兰忠明,林新坚,张伟光,等. 缺磷对紫云英根系分泌物产生及难溶性磷活化的影响. *中国农业科学*, 2012, 45(8):1521—1531. Lan Z M, Lin X J, Zhang W G, et al. Effect of P deficiency on the emergence of *Astragalus L.* root exudates and mobilization of sparingly soluble phosphorus (In Chinese). *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(8):1521—1531
- [14] 林文雄. 化感水稻抑草作用的根际生物学特性与研究展望. *作物学报*, 2013, 39(6):951—960. Lin W X. Rhizobiological properties of allelopathic rice in suppression of weeds and its research prospect (In Chinese). *Acta Agronomica Sinica*, 2013, 39(6):951—960
- [15] Ling N, Raza W, Ma J H, et al. Identification and role of organic acids in watermelon root exudates for recruiting *Paenibacillus polymyxa* SQR-21 in the rhizosphere. *European Journal of Soil Biology*, 2011, 47(6):374—379
- [16] Wu F Z, Liu B, Zhou X G. Effects of root exudates of watermelon cultivars differing in resistance to *Fusarium* wilt on the growth and development of *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Allelopathy Journal*, 2010, 25(2):403—413
- [17] Liu S W, Zhou X G, Liu B, et al. Sugars in watermelon root exudates and their effects on *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Allelopathy Journal*, 2011, 28(1):21—28
- [18] Mandal S M, Dipjyoti C, Satyahari D. Phenolic acids act as signaling molecules in plant-microbe symbioses. *Plant Signaling and Behavior*, 2010, 5(4):359—368
- [19] 申卫收,林先贵,张华勇,等. 不同栽培条件下蔬菜塑料大棚土壤尖孢镰刀菌数量的变化. *土壤学报*, 2008, 45(1):137—142. Shen W S, Lin X G, Zhang H Y, et al. Numbers of *Fusarium oxysporum* in different greenhouse vegetable soils (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2008, 45(1):137—142
- [20] 杨阳. 分蘖洋葱根系分泌物对黄瓜的化感作用及其应用. 哈尔滨:东北农业大学, 2010. Yang Y. Allelopathy of chinese onion root exudates on cucumber and its application (In Chinese). Harbin:Northeast Agricultural University, 2010
- [21] 潘凯,吴凤芝. 枯萎病不同抗性黄瓜(*Cucumis sativus L.*)根系分泌物氨基酸组分与抗病的相关性. *生态学报*, 2007, 27(5):1945—1950. Pan K, Wu F Z. Correlation analysis of amino acids components in cucumber root exudates and *Fusarium* wilt resistance (In Chinese). *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(5):1945—1950
- [22] Xie X Y, Dominik J W, Bosen W, et al. The short-term effect of cadmium on low molecular weight organic acid and amino acid exudation from mangrove (*Kandelia obovata* (S., L.) Yong) roots. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, 20(2):997—1008
- [23] 朱虹,祖元刚,王文杰,等. 逆境胁迫条件下脯氨酸对植物生长的影响. *东北林业大学学报*, 2009, 37(4):86—89. Zhu H, Zu Y G, Wang W J, et al. Effect of proline on plant growth under different stress conditions (In Chinese). *Journal of Northeast Forestry University*, 2009, 37(4):86—89
- [24] 左方华,凌桂芝,唐新莲,等. 铝胁迫诱导柱花草根系分泌柠檬酸. *中国农业科学*, 2010, 43(1):59—64. Zuo F H, Ling G Z, Tang X L, et al. Al stress-induced citrate secretion from roots in stylosanthes (In Chinese). *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(1):59—64
- [25] 赵第锟,张瑞萍,任丽轩,等. 旱作水稻西瓜间丛枝菌根菌丝桥诱导水稻磷转运蛋白的表达及对磷吸收的影响. *土壤学报*, 2012, 49(2):339—346. Zhao D K, Zhang R P, Ren L X, et al. Expression of rice phosphate transporter induced by mycorrhizal hyphal links between aerobic rice and watermelon and effects on phosphorus absorption (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2012, 49(2):339—346
- [26] Ren L X, Su S B, Yang X M, et al. Intercropping with aerobic rice suppressed *Fusarium* wilt in watermelon. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, 40(3):834—844

RESPONSE OF ROOT EXUDATES TO WATERMELON/AEROBIC RICE INTERCROPPING ORIENTED TO ALLEVIATE WATERMELON *FUSARIUM* WILT

Zhang Ning^{1,2} Zhang Ru¹ Wu Ping¹ Ren Lixuan^{1†} Xu Guohua¹

(1 Key Laboratory of Plant Nutrition and Fertilization in Low-Middle Reaches of the Yangtze River, Ministry of Agriculture,
College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

(2 China Tobacco Jiangsu Industrial company Limited, Nanjing 210019, China)

Abstract Watermelon is susceptible to wilt disease under continuous monocropping management. Watermelon/aerobic rice intercropping can alleviate watermelon wilt disease in continuous management soil. However, the mechanism is not very clear. A pot experiment was carried out to investigate effects of watermelon/aerobic rice intercropping on composition and contents of watermelon root exudates, such as phenolic acids amino acids and organic acids. Results show that watermelon wilt disease was alleviated under watermelon/aerobic rice intercropping condition. Compared with control, the treatment of inoculation with FON (*Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*) significantly increased the content of phenolic acids in the root exudates, especially coumaric acids, while the treatment of watermelon/aerobic rice intercropping reduced the exudation of most phenolic acids. Even in pots inoculated with FON, watermelon/aerobic rice intercropping significantly reduced the content of phenolic acids in the root exudates. Compared with control, FON inoculation increased the content of amino acids in watermelon root exudates, but did not in pots under watermelon/aerobic rice intercropping condition. and FON inoculation also increased significantly the volume of organic acids in watermelon root exudates, whereas watermelon/aerobic rice intercropping reduced the exudation of most of the organic acids and even in pots inoculated with FON. In conclusion, watermelon/aerobic rice intercropping may alleviate watermelon wilt disease, which is held to be related to the variation of the composition and volume of the exudates from watermelon roots.

Key words Aerobica rice; Intercropping; Watermelon wilt disease; Root exudates; Phenolic acids; Amino acids

(责任编辑:卢 萍)