

DOI: 10.11766/trxb201912300613

袁婷婷, 赵 骞, 董 艳. 阿魏酸胁迫下间作对蚕豆枯萎病发生和根系组织结构的影响[J]. 土壤学报, 2021, 58 (4): 1060–1071.

YUAN Tingting, ZHAO Qian, DONG Yan. Effects of Intercropping on Fusarium Wilt Infection and Root Tissue Structure under Ferulic Acid Stress[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, 58 (4): 1060–1071.

## 阿魏酸胁迫下间作对蚕豆枯萎病发生和根系组织结构的影响\*

袁婷婷, 赵 骞, 董 艳<sup>†</sup>

(云南农业大学资源与环境学院, 昆明 650201)

**摘 要:** 为明确酚酸类自毒物质阿魏酸在蚕豆连作障碍形成中的作用, 研究其促进蚕豆枯萎病发生的组织病理学机制, 揭示小麦蚕豆间作对阿魏酸胁迫的缓解效应。以蚕豆为试材, 研究尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *fabae*, FOF) 与不同浓度 (0、50、100、200 mg L<sup>-1</sup>) 阿魏酸双重胁迫下, 小麦蚕豆间作对蚕豆枯萎病发生、根系细胞壁降解酶 (果胶酶、纤维素酶、蛋白酶和淀粉酶) 活性、木质素含量、胼胝质沉积和根系超微结构的影响。结果表明: 与不添加阿魏酸的对照相比, 阿魏酸不同浓度处理均显著增加了蚕豆枯萎病的发病率、病情指数和细胞壁水解酶活性, 显著提高了木质素含量和胼胝质沉积, 使细胞结构扭曲变形, 胞内物质外泄, 表明阿魏酸与尖孢镰刀菌协同作用加剧了蚕豆连作障碍的发生。与单作相比, 不同浓度阿魏酸胁迫下, 间作均显著降低蚕豆枯萎病和病情指数; 显著降低根系果胶酶、纤维素酶、蛋白酶和淀粉酶活性; 减少胼胝质沉积, 保证营养物质的正常运输, 缓解细胞结构的变形。根系细胞膜、细胞核、细胞器等胞内物质受损较单作轻, 有效阻止尖孢镰刀菌进一步入侵蚕豆, 减轻枯萎病危害, 保证蚕豆的正常生长。上述结果表明, 阿魏酸胁迫下小麦与蚕豆间作能提高蚕豆对 FOF 侵染的抗性, 因此, 利用非寄主作物小麦与蚕豆间作是缓解蚕豆连作障碍的有效措施。

**关键词:** 蚕豆; 阿魏酸; 尖孢镰刀菌; 间作; 组织结构抗性

中图分类号: S643.6 文献标志码: A

## Effects of Intercropping on Fusarium Wilt Infection and Root Tissue Structure under Ferulic Acid Stress

YUAN Tingting, ZHAO Qian, DONG Yan<sup>†</sup>

(College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

**Abstract:** 【Objective】 To explore roles of ferulic acid, a phenolic-acid-like autotoxic substance, in occurrence of a hazard to monocropping of faba bean, mechanism of ferulic acid promoting faba bean *Fusarium* wilt and effects of interplanting of wheat with faba bean alleviating ferulic acid stress, a field experiment was carried out. 【Method】 In the experiment faba bean was interplanted with wheat. Effects of the interplanting were investigated on occurrence of fusarium wilt, activities of root cell wall

\* 国家自然科学基金项目 (31860596, 31560586) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 31860596 and 31560586)

<sup>†</sup> 通讯作者 Corresponding author, E-mail: dongyanx@163.com

作者简介: 袁婷婷 (1995—), 女, 贵州习水人, 硕士研究生, 主要从事间作系统根际微生态与病害控制等方面的工作。E-mail: yuantt1004@163.com

收稿日期: 2019–12–30; 收到修改稿日期: 2020–03–22; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2020–05–18

degrading enzymes (pectinase, cellulase, protease and amylase), lignin content, callose deposition and root ultrastructure in the presence of *Fusarium oxysporum* f. sp. fabae (FOF) and under the stress of ferulic acid varying in concentration (0, 50, 100 and 200 mg L<sup>-1</sup>). 【Result】Results show that in the monocropping group, compared with the controls (without ferulic acid stress), all the ferulic acid treatments, regardless of concentration, significantly increased incidence and index of the disease, activities of the cell wall degrading enzymes, lignin content and callose deposition, thus leading to distortion of cell structure, leakage of intracellular substances and worsening of the resistance of root tissue structure, which indicates that the synergistic effect of ferulic acid and the pathogen aggravated the hazard to monocropping of faba bean., while compared with the monocropping treatments, the interplanting treatments, though under the stress of 0-200 mg L<sup>-1</sup> ferulic acid, decreased incidence of the disease by 0.0%-31.7%, disease index by 28.3%-46.9%, root pectinase activity by 17.9%-60.1%, cellulase activity by 1.2%-28.2%, protease activity by 5.6%-60.3% and amylase activity by 16.8%-65.5%, but increased lignin content by 9.8%-57.7%, and reduced callose deposition, thus ensuring normal transportation of nutrients and alleviating deformation of cell structure. Intracellular substances of root cells, like membrane, nucleus and organelle, of the faba plants in the interplanting treatments were less damaged. Obviously the plants effectively prevented further invasion of FOF, reduced the damage of *Fusarium* wilt, and ensured normal growth of faba bean. The field experiment demonstrates that wheat and interplanting of faba bean with wheat can significantly reduce the damage of *Fusarium* wilt to the bean crop. 【Conclusion】All the findings in this experiment suggest that faba bean interplanted with wheat can improve the resistance of faba against FOF under ferulic acid stress. Therefore, the practice of interplanting can be adopted as an effective strategy for management of *Fusarium* wilt of faba bean.

**Key words:** Faba bean; Ferulic acid; *Fusarium oxysporum* f. sp. fabae; Interplanting; Tissue structure resistance

蚕豆是重要的食用豆类作物之一，富含蛋白质，作为粮食、蔬菜和饲料在世界各地广泛种植<sup>[1]</sup>。我国是世界上蚕豆栽培面积最大、总产量最高的国家<sup>[1]</sup>。据世界粮农组织（FAO）统计，2011年中国蚕豆生产面积为 0.92 万 hm<sup>2</sup>，总产量 155 万 t，分别占世界生产总面积和总产量的 39.1%和 38.4%<sup>[1]</sup>。云南是我国蚕豆生产面积和产量最大的省份，其产量约占中国总产的 27%<sup>[2]</sup>。

中国耕地面积逐年减少，耕种条件限制严重，不得不实施连作制度，导致了土传病害严重和土壤肥力逐年下降等问题<sup>[3]</sup>。蚕豆是典型的忌连作物，近年来随着蚕豆生产的不断发展，土地资源短缺、种植习惯和经济利益等原因，蚕豆连作现象较为普遍，由此引发的蚕豆连作障碍问题日益凸显<sup>[4]</sup>。由蚕豆专化型尖孢镰刀菌（*Fusarium. oxysporum* f. sp. fabae, FOF）引起的枯萎病是蚕豆连作障碍的重要表现，该病严重制约了蚕豆产业的可持续发展。尖孢镰刀菌属于兼性寄生菌，在无蚕豆存在时，其休眠孢子能在土壤中存活 10 a 以上仍表现出很强的致病性，因此土传蚕豆枯萎病的防控十分困难<sup>[5]</sup>。连作蚕豆枯萎病的发生与自毒作用密切相关，蚕豆根系分泌物和残茬腐解物中酚酸类物质的释放与积累是引起土壤微生物区系失衡、刺激病原菌生长并导

致蚕豆生长不良、枯萎病加重的直接原因<sup>[6]</sup>。前期在田间试验中发现，在同一块土地上连续多年种植蚕豆，出现出苗率低，生长势弱，枯萎病发病严重的现象；进一步通过高效液相色谱在连作土壤中检测到 7 种酚酸，其中阿魏酸是含量较高且自毒作用较强的化感物质，在蚕豆根与病原菌的互作中扮演着重要的角色，被认为是导致蚕豆连作障碍的主导因素<sup>[7]</sup>。

明确病原菌的致病因子和作用机制，是解决植物病害控制的关键。组织结构是寄主抵御病原菌侵染的第一道物理屏障，病原真菌在侵入寄主过程中，首先产生各种细胞壁降解酶（Cell wall degrading enzymes, CWDEs）水解构成植物细胞壁的高分子聚合物果胶、纤维素等，造成寄主作物细胞壁成分降解，细胞壁的降解不但可以帮助病原真菌突破物理屏障入侵寄主作物，还可从作物细胞内释放出多糖等营养物质供真菌生长，因此，细胞壁降解酶活性与真菌的致病力密切相关<sup>[8]</sup>。芦笋自毒物质损伤芦笋根尖和表皮细胞，从而增加了镰刀菌侵染的机会<sup>[9]</sup>。草莓根系分泌的对羟基苯甲酸胁迫下，草莓根系组织结构受破坏程度加重，根系中尖孢镰刀菌感染率显著提高<sup>[10]</sup>。表明连作自毒物质可加剧对寄主组织结构的破坏，降低其组织结构抗性。寄主作物感知

到病原菌的侵染,可迅速启动一系列的抗性反应,如木质素、胼胝质和胶质等累积,封闭受侵染或破裂的导管,防止真菌孢子随作物的蒸腾作用上行扩展,有效抑制病原菌产生的细胞壁降解酶扩散。

间作是利用种间互作控制病虫害发生、提高粮食产量的传统农作措施<sup>[11]</sup>。利用植物化感作用而采用的间作模式,是缓解连作障碍的有效手段<sup>[12]</sup>。前期研究中发现,小麦与蚕豆间作显著增加了根际微生物数量,提高了根际微生物活性而增加其对酚酸类碳源的降解,最终有效控制了蚕豆枯萎病的发生<sup>[7]</sup>。然而,有关连作自毒物质阿魏酸与 FOF 双重胁迫下,间作蚕豆根系中细胞壁降解酶活性有何变化,间作蚕豆是否主动改变其组织结构并影响木质素、胼胝质沉积以抵御 FOF 侵染尚不清楚。本研究以小麦/蚕豆间作体系为研究对象,通过水培试验、FOF 接种和阿魏酸外源添加手段,研究间作蚕豆组织结构变化对自毒物质和病原菌胁迫的响应,旨在揭示自毒物质加重蚕豆枯萎病发生的组织病理学机制及间作缓解效应;通过田间试验,验证小麦/蚕豆间作对蚕豆连作障碍的缓解效应。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

水培试验:于 2018 年 10 月—12 月在云南农业大学资源与环境学院温室大棚进行。

供试蚕豆品种为“89-147”,小麦品种为“云麦 53”。供试病原菌为蚕豆专化型尖孢镰刀菌(FOF),其分离和培养参照陈玲等<sup>[4]</sup>的方法进行。

试验为双因素试验设计,A 因素为阿魏酸处理,设四个浓度(0、50、100、200 mg L<sup>-1</sup>),B 因素为种植模式,设蚕豆单作和小麦与蚕豆间作,每处理重复 3 次,共计 24 盆。单作每盆种植 6 株蚕豆,间作每盆种植 3 株蚕豆和 9 株小麦,24 h 通气泵通气。

将蚕豆、小麦种子于室温下浸泡 24 h,置于 25 °C 下发芽后播种于无菌石英砂中。当蚕豆幼苗长至 4~6 片真叶时,将其放入盛有含不同浓度(0、50、100、200 mg L<sup>-1</sup>)阿魏酸的 2 L Hoagland 营养液容器中,间作处理每盆同时移栽 9 株 3 叶期小麦。待阿魏酸处理 2 d 后,将 25 mL 浓度为 1×10<sup>6</sup> cfu mL<sup>-1</sup>的尖孢镰刀菌孢子悬浮液加入该营养液中,每 3 天换新鲜

的营养液并添加相应的阿魏酸,于 40 d 后采收测定相应指标。

大田试验:大田试验于 2018 年 10 月—2019 年 5 月在云南省玉溪市峨山县峨峰村进行。

试验为单因素设计,为蚕豆单作和蚕豆与小麦间作 2 种植模式。每处理重复 3 次,共计 6 个小区。单、间作蚕豆均为点播,行距 0.3 m,株距 0.15 m。间作小区按 2 行蚕豆、6 行小麦种植。单、间作蚕豆播种前以基肥的形式施入 N(尿素)90 kg hm<sup>-2</sup>、P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>(普钙)100 kg hm<sup>-2</sup>、K<sub>2</sub>O(硫酸钾)100 kg hm<sup>-2</sup>,间作小麦氮肥施肥量为蚕豆的 2 倍,磷、钾肥用量与蚕豆相同。

### 1.2 蚕豆枯萎病调查

水培试验:于蚕豆移栽后 40 d 进行枯萎病调查,单作蚕豆每处理调查 3 盆,每盆调查 6 株,共计 18 株;间作蚕豆每处理调查 3 盆,每盆调查 3 株,共计 9 株。蚕豆枯萎病分级方法按 5 级分类标准进行调查<sup>[7]</sup>。

田间试验:于蚕豆分枝期、开花期和成熟期进行 3 次调查,调查蚕豆的选点为在蚕豆单作小区沿对角线方向随机选取 5 点,每点 2 株,共调查 10 株;间作小区在第一个种植带内选 3 点,第二个种植带内选 2 点,每点调查 2 株,共计调查 10 株。

发病率和病情指数计算公式如下:

$$\text{发病率}/\% = (\text{发病株数}/\text{调查总株数}) \times 100$$

$$\text{病情指数} = \frac{\sum (\text{各级病株数} \times \text{相应级值})}{(\text{最高级值} \times \text{调查总株数})} \times 100$$

### 1.3 蚕豆根细胞壁降解酶活性测定

果胶酶、纤维素酶和淀粉酶活性测定均采用 3,5-二硝基水杨酸法(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)进行<sup>[13]</sup>。蛋白酶活性测定采用改进的 Kunit 蛋白酶活性法<sup>[14]</sup>。每处理重复 3 次,取平均值。

### 1.4 蚕豆根系木质素含量测定和胼胝质沉积观察

采用叶素芬<sup>[15]</sup>的巯基乙酸法进行蚕豆根系木质素含量测定。胼胝质染色采用苯胺蓝法,根据王宁等<sup>[16]</sup>的方法制作永久石蜡切片,依次将切片放入二甲苯 I 20 min,二甲苯 II 20 min,无水乙醇 I 5 min,无水乙醇 II 5 min,75%酒精 5 min 后,用自来水进行冲洗。将切片放入苯胺蓝染液 5~10 min,再用自

来水冲洗后，置于 60 °C 烤箱内烤干，放入二甲苯透明 5 min，使用中性树胶封片，用正置光学显微镜 (Nikon Eclipse E100, 日本) 蓝色激发光下观察。

### 1.5 透射电镜制样和观察

在离根尖 1~2 cm 处取样，取样长度约 5 mm，使用戊二醛固定，室温放置 2 h，再转入 4 °C 冰箱。0.1 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸缓冲液 (Phosphate buffered saline, PBS, pH 7.4) 漂洗 3 次，每次 15 min，1% 的锇酸，0.1 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸缓冲液 (pH 7.4) 室温固定 5 h 后脱水。使用 Epon812 树脂包埋，超薄切片 (Leica UC7, 德国) 进行切片，进行铀铅双染色，室温干燥过夜后，透射电子显微镜 (HT7700, 日本) 下观察。

### 1.6 数据处理

采用 WPS 2019 软件处理原始数据，SPSS 20.0 软件对实验数据进行方差分析，最小显著差异法 (LSD) 检验各处理间差异显著性。

## 2 结果

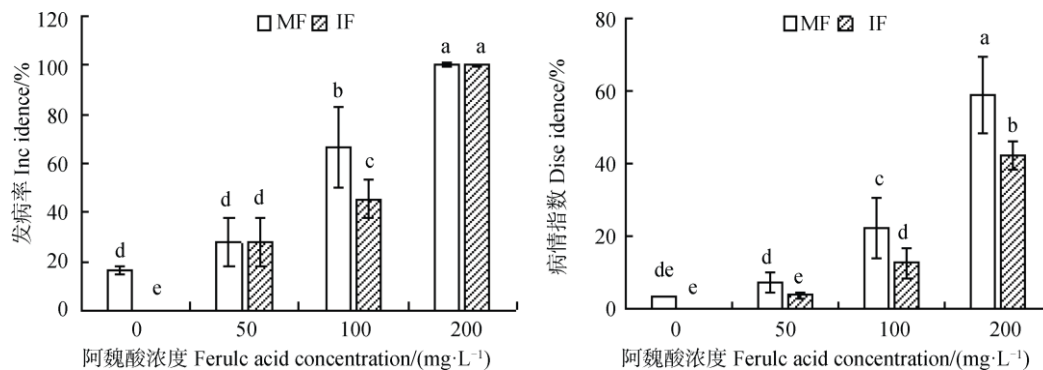
### 2.1 阿魏酸胁迫下间作对蚕豆枯萎病发生的影响

蚕豆单作条件下，与不添加阿魏酸的处理相比，阿魏酸处理显著增加枯萎病发病率和病情指数 ( $P < 0.05$ )。100 和 200 mg L<sup>-1</sup> 浓度的阿魏酸处理显著增加发病率 3.0 倍和 5.0 倍，显著增加病情指数 5.0 倍和 16.0 倍，50 mg L<sup>-1</sup> 浓度处理对发病率和病情指数均无显著影响 (图 1)。阿魏酸各浓度 (50、100 和 200 mg L<sup>-1</sup>) 胁迫下，与单作相比，间作均有

效地控制了蚕豆枯萎病的发生和危害 (图 1)。100 mg L<sup>-1</sup> 阿魏酸胁迫下间作使蚕豆枯萎病的发病率显著降低 31.7%，50 和 200 mg L<sup>-1</sup> 浓度处理下，间作对蚕豆枯萎病发病率无显著影响；50、100 和 200 mg L<sup>-1</sup> 浓度胁迫下，间作显著降低蚕豆枯萎病病情指数 46.9%、42.5% 和 28.3%。表明阿魏酸处理增加蚕豆枯萎病的发病率和病情指数，而小麦与蚕豆间作能缓解阿魏酸对蚕豆枯萎病的促进效应，其中以 50 和 100 mg L<sup>-1</sup> 浓度胁迫下间作降低病情指数的效果较好，暗示了高浓度阿魏酸胁迫下，间作控制枯萎病的效果下降。

### 2.2 阿魏酸胁迫下间作对蚕豆细胞壁降解酶活性的影响

单作条件下，随阿魏酸处理浓度增加，果胶酶、纤维素酶、蛋白酶和淀粉酶活性均显著增加 ( $P < 0.05$ ) (图 2)。与不添加阿魏酸的处理相比，50、100、200 mg L<sup>-1</sup> 阿魏酸处理显著增加果胶酶活性 192.9%、707.1% 和 1 136.0%，平均增加 678.6%；显著增加蛋白酶活性 396.0%、844.1% 和 1 278.6%，平均增加 839.6%；显著增加淀粉酶活性 3 056.0%、4 978.0% 和 16 889.0%，平均增加 8 308.0%。100、200 mg L<sup>-1</sup> 浓度处理显著增加纤维素酶活性 14.2% 和 29.1%，平均增加 21.7%，50 mg L<sup>-1</sup> 浓度处理对纤维素酶活性无显著性影响。表明尖孢镰刀菌产生的果胶酶、纤维素酶、蛋白酶和淀粉酶活性均随阿魏酸处理浓度增加而增加，在 200 mg L<sup>-1</sup> 浓度下刺激作用最强；同时阿魏酸对果胶酶、淀粉酶和蛋白酶的刺激作用较强，而对纤维素酶的刺激效应最弱。



注：MF：单作蚕豆；IF：间作蚕豆。图中不同字母表示不同处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同。Note: MF: Monocropped faba bean; IF: Interplanted faba bean. Different letters meant significant differences at 0.05 level between different treatments. The same below.

图 1 不同浓度阿魏酸胁迫下间作对蚕豆枯萎病发病率和病情指数的影响

Fig. 1 Effects of the interplanting on incidence and index of faba bean *Fusarium* wilt under ferulic acid stress varying in concentration

与单作相比,不添加阿魏酸条件下,间作对蚕豆根系果胶酶和纤维素酶活性均无显著性影响;50、100和200 mg L<sup>-1</sup>浓度胁迫下,间作使果胶酶活性显著降低59.8%、32.7%和25.2%,平均降低33.9%;使蛋白酶活性显著降低60.3%、39.0%和18.9%,平均降低了39.4%;50、200 mg L<sup>-1</sup>浓度下,使淀粉酶活性显著降低56.6%和50.8%,100 mg L<sup>-1</sup>浓度下间作对淀粉酶活性无显著影响,3个浓度下平均降低42.3%;0、50、100 mg L<sup>-1</sup>浓度胁迫下,间作有降

低蚕豆根系纤维素酶活性的趋势,但单间作处理间差异不显著,200 mg L<sup>-1</sup>浓度胁迫下,间作显著降低纤维素酶活性10.0%(图2)。

阿魏酸不同浓度胁迫下,间作均有效抑制了各种细胞壁降解酶(除纤维素酶外)活性,总体上以50和100 mg L<sup>-1</sup>浓度胁迫下间作降低细胞壁水解酶的效果最好,从平均值来看,间作降低细胞壁降解酶的效果由高到低依次为淀粉酶、蛋白酶、果胶酶、纤维素酶。

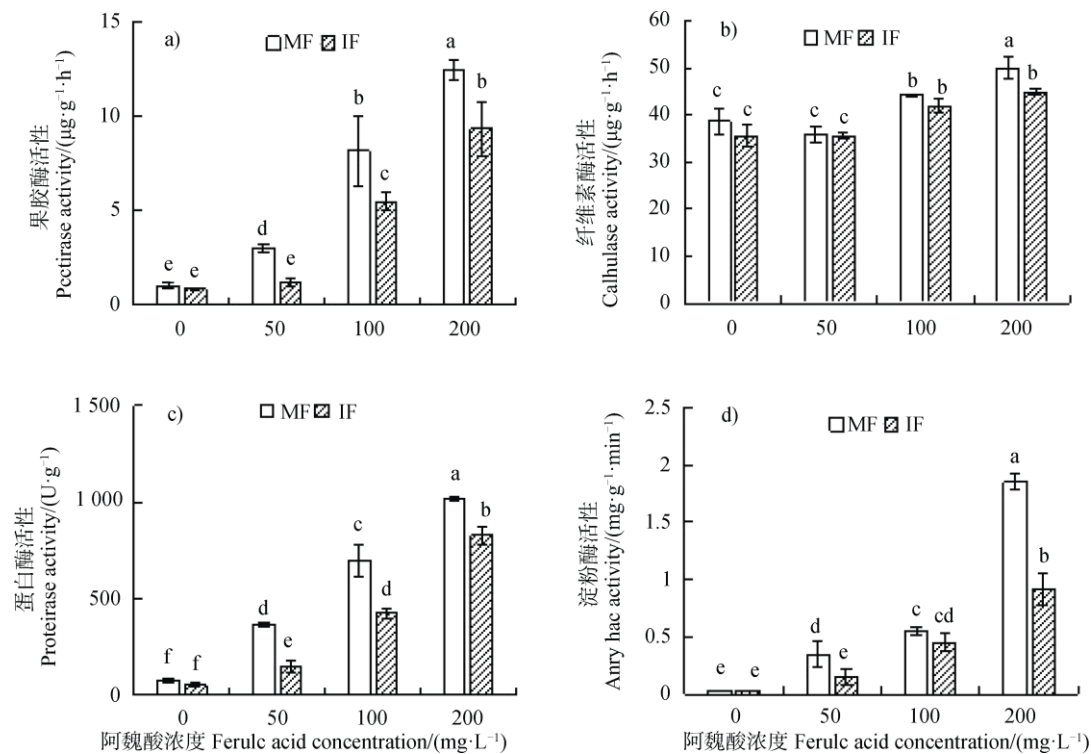


图2 不同浓度阿魏酸胁迫下间作对蚕豆根系细胞壁降解酶活性的影响

Fig. 2 Effects of the interplanting on activities of cell wall degrading enzymes in faba bean roots under ferulic acid stress relative to concentration

## 2.3 阿魏酸胁迫下间作对蚕豆根系组织结构抗性的影响

**2.3.1 对蚕豆根系木质素含量及胼胝质沉积的影响** 单作条件下,随阿魏酸处理浓度升高,蚕豆根系木质素含量显著增加( $P < 0.05$ )。与对照相比,阿魏酸50、100、200 mg L<sup>-1</sup>处理显著增加木质素含量52.5%、81.1%和123.3%,平均增加85.6%(图3)。与单作相比,仅接种尖孢镰刀菌不添加阿魏酸时,间作使蚕豆根系木质素含量显著增加45.5%;阿魏酸50 mg L<sup>-1</sup>浓度胁迫下,间作对木质素含量无显著影响;100和200 mg L<sup>-1</sup>浓度胁迫下,间作使蚕豆根系木质素含量增加12.5%和8.3%,但单间作处理

间差异均未达到显著水平。表明无阿魏酸胁迫时,间作显著提高了蚕豆根系木质素含量,诱导根系木质化反应,提高了蚕豆根系的免疫机能。

植物在遭受病原菌侵染的逆境胁迫时,会产生胼胝质等物质堵塞通道,阻碍病原真菌进入寄主细胞,减缓病原真菌的侵入速度,出现坏死反应。图4为阿魏酸胁迫对蚕豆根系胼胝质沉积的影响,图中绿色荧光部分为胼胝质。胼胝质的沉积反映了尖孢镰刀菌在蚕豆根系的侵染情况,蚕豆单作条件下,随阿魏酸处理浓度增加,胼胝质沉积也随之增多,且伴随有严重的细胞结构破损,尖孢镰刀菌的侵染能力增强。



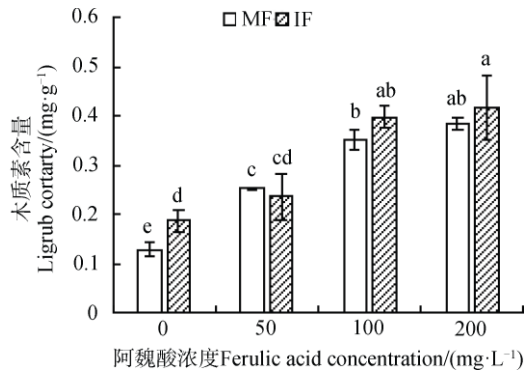
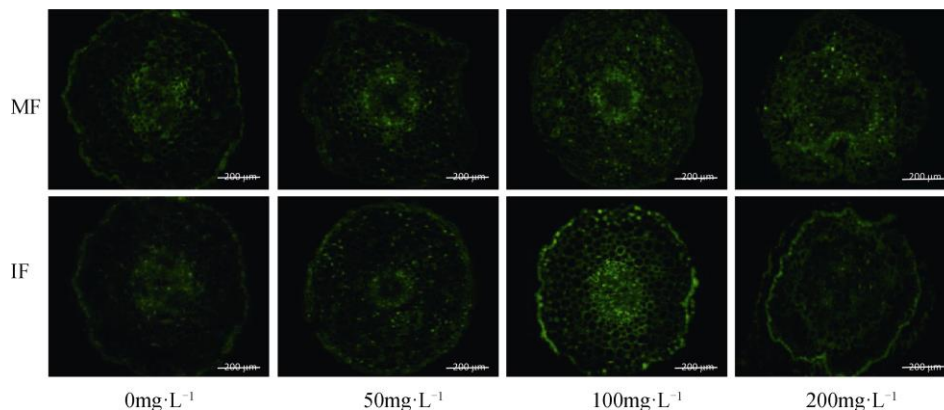


图3 阿魏酸胁迫下间作对蚕豆根系木质素含量的影响  
Fig. 3 Effects of the interplanting on lignin content in faba bean roots under ferulic acids stress

与单作相比，不添加阿魏酸情况下，间作对胼胝质沉积的影响较小；阿魏酸  $50 \text{ mg L}^{-1}$  胁迫下，间作蚕豆根系的胼胝质分布较散，减少了其中柱的聚集； $100 \text{ mg L}^{-1}$  胁迫下，间作蚕豆根系的胼胝质沉积有所增加； $200 \text{ mg L}^{-1}$  胁迫下，间作蚕豆根系中的胼胝质明显少于单作，但伴有细胞结构破损。



注：绿色荧光部分表示胼胝质的沉积量。Note: The green fluorescent portion shows the amount of callose deposition.

图4 不同浓度阿魏酸胁迫下间作对蚕豆根系胼胝质含量的影响

Fig. 4 Effects of the interplanting on callose content in faba bean roots under ferulic acid stress relative to concentration

与单作相比，不添加阿魏酸条件下，间作蚕豆根系细胞中的空泡少于单作蚕豆，细胞器完整清晰，细胞间排列有序，总体变化不明显（图 5e）。 $50 \text{ mg L}^{-1}$  阿魏酸胁迫下，间作蚕豆根系细胞中的空泡化明显缓解，细胞核变形，但较单作蚕豆根系细胞核完整，且变形程度较小（图 5f）； $100 \text{ mg L}^{-1}$  阿魏酸胁迫下，间作蚕豆根系细胞内空泡增加且变大，但与单作相比，细胞质外泄情况较少，细胞核较完整，线粒体、内质网等细胞器依然存在于细胞

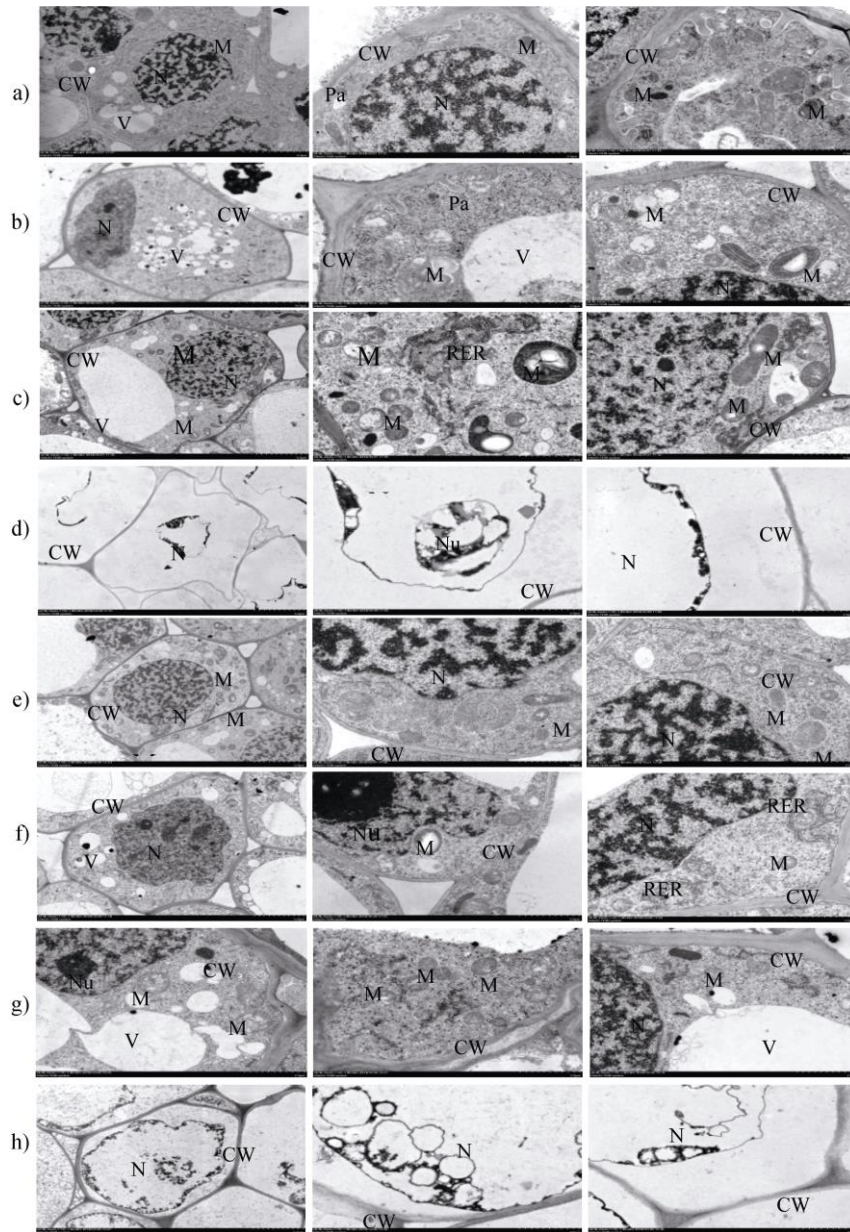
表明中、低浓度下间作有效地缓解胼胝质沉积，减少导管的堵塞，使营养和水分能够正常的运输，进而有效缓解蚕豆枯萎病的发生，但高浓度条件下，单作均使细胞破损严重，对枯萎病的缓解效果不明显。

**2.3.2 对蚕豆根系超微结构的影响** 蚕豆单作条件下，接种尖孢镰刀菌但不添加阿魏酸时，细胞壁轻微加厚，壁上出现少量的乳突，液泡小而多，线粒体球形或长椭圆形，核质均匀（图 5a）； $50 \text{ mg L}^{-1}$  浓度处理下，细胞壁明显加厚，壁上出现大量的乳突，线粒体增多，空泡化严重，细胞核轻微变形扭曲，内质网增多（图 5b）； $100 \text{ mg L}^{-1}$  浓度处理下，细胞内出现巨大的空泡，线粒体空泡化加重，线粒体脊模糊，内质网扭曲，细胞器被液泡和细胞核挤在细胞壁边缘，部分细胞器被消解（图 5c）；而  $200 \text{ mg L}^{-1}$  浓度处理下，细胞结构扭曲变形，细胞器、细胞膜和核膜完全消解，细胞内仅剩少量的核质（图 5d）。

中（图 5g）； $200 \text{ mg L}^{-1}$  阿魏酸胁迫下，间作缓解了蚕豆根系细胞的变形，且间作蚕豆的细胞壁明显厚于单作蚕豆，残余核质较单作多（图 5h）。表明间作有效保护了蚕豆根系细胞的完整性，缓解了阿魏酸对蚕豆根系细胞的损伤。

## 2.4 田间小麦与蚕豆间作对蚕豆枯萎病发生的影响

田间试验表明，从蚕豆开花期到成熟期，枯萎病发病率及病情指数均呈增加趋势，且间作均较单作低（图 6）。与单作相比，蚕豆开花期，间作显著



注: N: 细胞核; Nu: 核仁; RER: 内质网; M: 线粒体; V: 液泡; CW: 细胞壁; Pa: 乳突。a): 单作蚕豆+0 mg L<sup>-1</sup>阿魏酸处理; b): 单作蚕豆+50 mg L<sup>-1</sup>阿魏酸处理; c): 单作蚕豆+100 mg L<sup>-1</sup>阿魏酸处理; d): 单作蚕豆+200 mg L<sup>-1</sup>阿魏酸处理; e): 间作蚕豆+0 mg L<sup>-1</sup>阿魏酸处理; f): 间作蚕豆+50 mg L<sup>-1</sup>阿魏酸处理; g): 间作蚕豆+100 mg L<sup>-1</sup>阿魏酸处理; h): 间作蚕豆+200 mg L<sup>-1</sup>阿魏酸处理。Note: N: Nucleus; Nu: Nucleolus; RER: Rough endoplasmic reticulum; M: Mitochondrion; V: Vacuole; CW: Cell wall; Pa: Papillary. a): Monocropped faba bean under the stress of 0 mg L<sup>-1</sup> ferulic acid; b): Monocropped faba bean under the stress of 50 mg L<sup>-1</sup> ferulic acid; c): Monocropped faba bean under the stress of 100 mg L<sup>-1</sup> ferulic acid; d): Monocropped faba bean under the stress of 200 mg L<sup>-1</sup> ferulic acid; e): Interplanted faba bean under the stress of 0 mg L<sup>-1</sup> ferulic acid; f): Interplanted faba bean under the stress of 50 mg L<sup>-1</sup> ferulic acid; g): Interplanted faba bean under the stress of 100 mg L<sup>-1</sup> ferulic acid; h): Interplanted faba bean under the stress of 200 mg L<sup>-1</sup> ferulic acid.

图5 不同浓度阿魏酸胁迫条件下间作对蚕豆根系超微结构的影响

Fig. 5 Effect of the interplanting on ultrastructure of faba bean root under ferulic acid stress relative to concentration

降低枯萎病发病率和病情指数 87.6%、83.3%；结荚期，间作显著降低发病率和病情指数 15.0%、42.1%；成熟期，间作显著降低病情指数 13.6%，但对发病

率无显著影响。表明小麦蚕豆间作能显著降低蚕豆枯萎病的发生和危害，尤其在蚕豆开花期的抑制效应最明显，有效缓解蚕豆连作障碍。

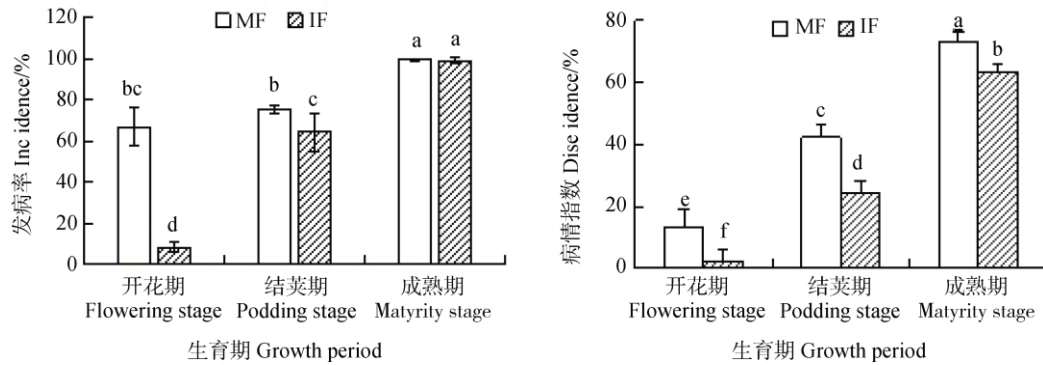


图 6 间作对蚕豆枯萎病发病率和病情指数的影响 (田间试验)

Fig. 6 Effects of the interplanting on incidence and index of faba bean *Fusarium* wilt

### 3 讨论

#### 3.1 阿魏酸促进蚕豆枯萎病发生而间作减轻蚕豆枯萎病

很早人们就发现,连作作物根系分泌物具有促进土传病害发生的效果,并且研究者相继从连作作物根系分泌物中分离出各种酚酸类物质,并证实了这些酚酸类物质具有促进病害发生的效果<sup>[16]</sup>。杨瑞秀等<sup>[17]</sup>的研究发现,甜瓜连作自毒物质肉桂酸、阿魏酸和苯甲酸对枯萎病的发生均具有促进作用,且自毒物质处理浓度与病情指数呈正相关关系。本研究中,水培试验结果表明,与不添加阿魏酸的对照相比,阿魏酸中 ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ )、高 ( $200 \text{ mg L}^{-1}$ ) 浓度处理显著增加蚕豆枯萎病发病率和病情指数,且处理浓度越高促进效应越明显(图 1)。李石力<sup>[18]</sup>的研究也发现,烟草连作自毒物质肉桂酸和肉豆蔻酸均能够促进青枯病菌在根部的定殖与侵染,提高烟草青枯病的发病程度,其中以肉桂酸的刺激效果最明显。

间作作为我国传统农业的精髓,具有增产、提高养分资源利用效率、增加农田生物多样性和稳定性及持续控制病害的优势<sup>[11]</sup>。有关间作控制土传病害、缓解连作障碍的现象已经在大量研究中被观察到,如西瓜与旱作水稻间作抑制西瓜根际病原菌的生长,降低西瓜枯萎病的病情指数<sup>[19]</sup>;小麦与西瓜伴生减轻了西瓜枯萎病的发生<sup>[20]</sup>。本研究中,不同浓度阿魏酸胁迫下(水培试验),小麦与蚕豆间作降低了蚕豆枯萎病的发病率和病情指数,以低 ( $50 \text{ mg L}^{-1}$ )、中 ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ) 浓度阿魏酸胁迫下

间作减轻枯萎病危害的效果较好,高浓度 ( $200 \text{ mg L}^{-1}$ ) 阿魏酸胁迫下,间作控制蚕豆枯萎病危害的效果下降(图 1)。表明间作能较好地减轻土传病害发生,但间作缓解蚕豆连作障碍的效果受自毒物质胁迫浓度的影响。本研究进一步通过田间试验进行验证,发现小麦与蚕豆间作能显著降低蚕豆枯萎病的危害(图 6)。表明小麦作为化感作物,与蚕豆间作能有效缓解蚕豆连作障碍。

#### 3.2 阿魏酸胁迫下间作降低蚕豆根系细胞壁降解酶活性

尖孢镰刀菌可分泌多种细胞壁降解酶,如:果胶酶、纤维素酶、淀粉酶、蛋白酶等<sup>[21]</sup>。果胶酶主要分解果胶层,使细胞离散,组织结构散乱,从而导致细胞壁损伤,并将细胞壁高聚半乳糖醛酸分解为低聚半乳糖醛酸作为营养物质进行利用<sup>[22]</sup>。纤维素酶作用于纤维素及纤维素衍生出来的产物,将纤维素降解为葡萄糖供植物体所利用。蛋白酶和淀粉酶主要作用于细胞内的蛋白质和淀粉,使胞内物质分散解离<sup>[23]</sup>。

杨志敏等<sup>[8]</sup>的研究表明,细胞壁降解酶是干腐病菌 (*Fusarium sulphureum* Schlechlendahl) 侵染和扩展过程中主要的致病因子,接种干腐病菌后,马铃薯组织内干腐病菌分泌的细胞壁水解酶活性增强,加速干腐病菌侵染马铃薯。花生叶腐病菌在花生植株内能产生果胶酶、纤维素酶、木聚糖酶、漆酶等细胞壁降解酶,这些降解酶与叶腐病菌侵染及花生叶腐病发生密切相关<sup>[24]</sup>。本研究中,与不添加阿魏酸的对照相比,单、间作条件下,阿魏酸不同浓度处理均促进尖孢镰刀菌产生更高活性的细胞壁降解酶,其中阿魏酸对果胶酶、淀粉酶和蛋白酶的



刺激作用较强,而对纤维素酶的刺激效应最弱。与单作相比,阿魏酸胁迫下间作使蚕豆根系果胶酶、纤维素酶、蛋白酶和淀粉酶活性分别降低 33.9%、6.3%、35.9%和 42.3%,降低效应由高到低依次为淀粉酶、蛋白酶、果胶酶和纤维素酶(图 2)。表明间作通过降低蚕豆根系果胶酶活性使细胞与细胞间紧密相连,降低淀粉酶和蛋白酶活性使胞内物质凝聚,最终维持细胞的形态结构,从而使胞内物质的解离和细胞结构的变形成得到改善,延缓镰刀菌侵入蚕豆根系的速度,降低镰刀菌的致病力,进而有效控制枯萎病的发生。

### 3.3 间作提高了阿魏酸胁迫下蚕豆根系组织结构的抗性

酚酸类自毒物质胁迫下,病原菌侵入植物体内会分泌细胞壁降解酶损伤植物根系、抑制植物生长,导致植物组织、细胞受损,创造有利于病原菌入侵和生长的环境。研究表明,外界胁迫下植株局部会迅速木质化,即在侵染点周围形成防御壁等结构屏障(木质素),细胞壁木质化是植物受到伤害时诱导所产生的早期防御反应,能够抑制病原菌酶和毒素对寄主的破坏,具有机械抗病性作用<sup>[25]</sup>。黄瓜连作条件下,黄瓜枯萎病发病级别和植株感病程度的增加与胼胝质在植株体内的积累量呈正相关关系<sup>[26]</sup>。胼胝质的积累一方面限制了病原菌的进一步侵入,同时也堵塞导管,抑制了植株体内水分与营养物质的流动,加重黄瓜枯萎病危害<sup>[26]</sup>。

本研究中,阿魏酸处理促进单、间作蚕豆根系中木质素含量和胼胝质沉积增加,但间作蚕豆根系木质素含量高于单作,且胼胝质沉积少于单作蚕豆(图 3、图 4)。原因可能是低浓度阿魏酸处理使蚕豆根部的防卫机能启动,但随处理浓度的增加,蚕豆受到的不良胁迫加重,进而加剧枯萎病的发生。与单作相比,相同浓度阿魏酸胁迫下,小麦蚕豆间作能促进蚕豆根系木质素的分泌,加快受感染部位的木质化,减少蚕豆根部导管中胼胝质的沉积,阻止尖孢镰刀菌的进一步侵入,减轻导管堵塞,有助于蚕豆抵御自毒物质胁迫并保证养分和水分的正常运输,进而减缓蚕豆枯萎病的危害;表明间作蚕豆对病原菌侵染的信号传递更加敏感,能够有效减少阿魏酸对植株抗性系统的干扰,减轻植株的导管堵塞情况,提高蚕豆的组织结构抗性。但在高浓度胁迫条件下,胼胝质沉积虽有所减少,细胞结构的损伤

并未缓解,表明在低、中浓度阿魏酸胁迫下,间作能够有效的缓解胼胝质沉积,提高根系木质化程度,但超过该浓度后,由于阿魏酸使细胞壁水解酶活性增加,破坏了蚕豆自身的防御反应,缓解效应不明显。因此,一定浓度阿魏酸胁迫下小麦蚕豆间作可通过提高蚕豆的组织抗性而加强自身防御功能,进而有效缓解蚕豆枯萎病的发生。

化感自毒物质通过破坏植物细胞,干扰植物自身的生理生化过程,降低植物对病原菌的防御反应,加重连作障碍的发生<sup>[27]</sup>。杨敏<sup>[27]</sup>通过透射电镜观察发现,三七根系分泌的皂苷类自毒物质 Rg1 处理使三七根系出现细胞壁增厚,细胞严重变形皱缩,细胞质浓缩,表现出明显的质壁分离现象,根系中细胞壁主要组成成分(纤维素和果胶等)降解,细胞结构被破坏,最终促进根腐病菌的侵染。李勇等<sup>[28]</sup>通过对人参幼苗根系超微结构观察发现,在连作自毒物质苯甲酸胁迫下,人参根系细胞壁异常增厚,核膜、核仁解体、消散,细胞内出现大量空泡。本研究通过透射电镜观察发现,不同浓度阿魏酸处理下,蚕豆根系细胞组织结构出现质壁分离,细胞壁加厚,线粒体和内质网增多(图 5)。原因可能是阿魏酸胁迫促进枯萎病菌侵入蚕豆根系,早期出现细胞壁增厚现象,加速根系木质化程度,抵御自毒物质的胁迫反应;随着阿魏酸胁迫浓度增加,细胞内线粒体、内质网增多,暗示了病原菌的进一步侵入使细胞呼吸作用加快,促进细胞膜和细胞器消解、细胞核解体等不良反应<sup>[29]</sup>。表明阿魏酸胁迫降低蚕豆根系的组织结构抗性,促进尖孢镰刀菌侵入蚕豆,导致枯萎病发生。

小麦与蚕豆间作降低了蚕豆根系细胞壁水解酶活性,减缓细胞壁、细胞膜和细胞器等结构的消解(图 5),阻止尖孢镰刀菌的进一步侵入,使细胞组织结构受损状况得到明显的缓解,细胞的完整性明显提高,但随着阿魏酸处理浓度增加,细胞结构受损程度均较严重,表明间作缓解效应具有一定的浓度限制,超过一定浓度胁迫时,间作缓解效应不明显。因此,在低、中浓度累积条件下,间作能有效缓解阿魏酸对蚕豆根系组织结构的破坏作用,提高蚕豆的组织结构抗性,降低尖孢镰刀菌的致病力而提高蚕豆的健康程度。

阿魏酸作为蚕豆根系分泌的主要次生代谢产物,随着其在土壤中的不断积累,可与土壤中累积

的病原菌协同作用, 促进土传病害的发生, 加剧蚕豆连作障碍。本研究在水培试验中设置了 50、100、200 mg L<sup>-1</sup> 3 个浓度梯度外源添加, 但在土壤中实际测定的酚酸含量通常低于该浓度, 原因是田间土壤中微生物种类丰富, 有益微生物能有效降解土壤中的酚酸类物质, 最终导致其含量降低。如 Li 等<sup>[30]</sup> 的研究发现, 在未灭菌土壤中外源添加 170 mg kg<sup>-1</sup> 的苯甲酸后, 土壤中的苯甲酸大约在 7 d 左右就全部被降解, 表明通过根系分泌或残体腐解等途径进入土壤中的酚酸含量一般是高于实测浓度的。本研究中外源添加了较土壤实测浓度高的阿魏酸并接种尖孢镰刀菌, 发现间作能够有效减轻蚕豆枯萎病的危害。然而本研究中水培环境与土壤还存在很大的差异, 阿魏酸在蚕豆连作障碍形成中的实际作用有待通过土培试验进一步验证。

## 4 结 论

阿魏酸胁迫一方面增加尖孢镰刀菌分泌更高活性的细胞壁降解酶, 促进其对蚕豆根系细胞壁的降解, 打破蚕豆根系的物理屏障, 促进尖孢镰刀菌的定殖、传播和症状的扩展; 另一方面阿魏酸还进一步增加蚕豆根系中木质素含量和胼胝质沉积, 加剧对蚕豆根系组织结构的破坏, 为尖孢镰刀菌的入侵提供有利条件, 降低蚕豆的抗性而促进枯萎病发生。小麦与蚕豆间作可降低蚕豆根系细胞壁降解酶活性, 提高蚕豆根系的木质化程度, 减少胼胝质沉积, 减轻导管堵塞, 减缓细胞壁、细胞膜、细胞器等物的消解, 保护细胞结构的完整性, 最终减轻蚕豆枯萎病的发生和危害, 有效缓解蚕豆的连作障碍。表明小麦与蚕豆间作有利于细胞形成物理屏障, 阻止病原菌的入侵, 控制蚕豆枯萎病的发生, 是克服蚕豆连作障碍的环保、经济、有效方法。

## 参考文献 (References)

- [ 1 ] Huang Y, Zhu Z D, Duan C X, et al. Genetic diversity of *Botrytis cinerea* isolates from broad bean[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2014, 47 ( 12 ): 2335–2347. [黄燕, 朱振东, 段灿星, 等. 灰葡萄孢蚕豆分离物的遗传多样性[J]. 中国农业科学, 2014, 47 ( 12 ): 2335–2347.]
- [ 2 ] Wang H F, Zong X X. Advances in research of genetic resources, breeding and QTL for disease resistance and resistance to abiotic stresses on *Vicia faba* L[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2011, 12 ( 2 ): 259–270. [王海飞, 宗绪晓. 蚕豆种质资源、抗病育种和 QTL 定位及抗逆性研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12 ( 2 ): 259–270.]
- [ 3 ] Bai Y, Qian J M, Zhou J M, et al. Crop microbiome: Breakthrough technology for agriculture[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2017, 32 ( 3 ): 260–265. [白洋, 钱景美, 周俭民, 等. 农作物微生物组: 跨越转化临界点的现代生物技术[J]. 中国科学院院刊, 2017, 32 ( 3 ): 260–265.]
- [ 4 ] Chen L, Zhao Q, Dong K, et al. Physiological mechanism of faba bean *Fusarium* wilt promoted by benzoic acid and cinnamic acid[J]. Journal of Plant Protection, 2019, 46 ( 2 ): 298–304. [陈玲, 赵骞, 董坤, 等. 苯甲酸和肉桂酸促进蚕豆枯萎病发生的生理生化机制[J]. 植物保护学报, 2019, 46 ( 2 ): 298–304.]
- [ 5 ] Gao X M, Ma L G, Hao J, et al. Effects of acetone chromatography extracts of parsley root materials on the cell wall degrading enzymes activities and fusaric acid contents of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*[J]. Chinese Journal of Ecology, 2014, 33 ( 12 ): 3388–3394. [高晓敏, 马立国, 郝静, 等. 西芹根物质四次酮层物对黄瓜枯萎病菌细胞壁降解酶活性及镰刀菌酸含量的影响[J]. 生态学杂志, 2014, 33 ( 12 ): 3388–3394.]
- [ 6 ] Dong Y, Dong K, Yang Z X, et al. Microbial impacts of *Fusarium* wilt promoted by cinnamic acid in the rhizosphere of *Vicia faba*[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2016, 43 ( 8 ): 1525–1536. [董艳, 董坤, 杨智仙, 等. 肉桂酸加剧蚕豆枯萎病发生的根际微生物效应[J]. 园艺学报, 2016, 43 ( 8 ): 1525–1536.]
- [ 7 ] Dong Y, Dong K, Yang Z X, et al. Microbial and physiological mechanisms for alleviating *Fusarium* wilt of *Faba* bean in intercropping system[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2016, 27 ( 6 ): 1984–1992. [董艳, 董坤, 杨智仙, 等. 间作减轻蚕豆枯萎病的微生物和生理机制[J]. 应用生态学报, 2016, 27 ( 6 ): 1984–1992.]
- [ 8 ] Yang Z M, Bi Y, Li Y C, et al. Changes of cell wall degrading enzymes in potato tuber tissue slices infected by *Fusarium sulphureum*[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45 ( 1 ): 127–134. [杨志敏, 毕阳, 李永才, 等. 马铃薯干腐病菌侵染过程中切片组织细胞壁降解酶的变化[J]. 中国农业科学, 2012, 45 ( 1 ): 127–134.]
- [ 9 ] Hartung A C, Putnam A R, Stephens C T. Inhibitory activity of asparagus root tissue and extracts on asparagus seedlings[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1989, 22 ( 22 ): 168–174.
- [ 10 ] Qi Y Z, Su Y, Wang N, et al. Observation on histological structure of strawberry roots after inoculating *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* under 4-hydroxybenzoic acid stress[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2015, 42 ( 10 ): 1909–1918. [齐永志, 苏媛, 王宁, 等. 对羟基苯甲酸

- 胁迫下尖孢镰刀菌侵染草莓根系的组织结构观察[J]. 园艺学报, 2015, 42 (10): 1909–1918.]
- [ 11 ] Li L. Intercropping enhances agroecosystem services and functioning: Current knowledge and perspectives[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2016, 24(4): 403–415. [李隆. 间套作强化农田生态系统服务功能的研究进展与应用展望[J]. 中国生态农业学报, 2016, 24(4): 403–415.]
- [ 12 ] 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*[J]. Plant and Soil, 2010, 336 (1/2): 485–497.
- [ 13 ] Zhou T. Studies on the changes of cell wall degrading enzymes in wheat leaves infected by *puccinia striiformis* f. sp. *Triticici*[D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2007. [周婷. 受条锈菌侵染后小麦叶片中细胞壁降解酶活性变化的研究[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2007.]
- [ 14 ] Guo S M, Du T Z, Qiu Y X, et al. Determination of leaf protease activity of subtropical plant[J]. Fine Chemicals, 2006, 23 (9): 887–890, 899. [郭圣茂, 杜天真, 邱业先, 等. 亚热带植物叶蛋白酶活性研究[J]. 精细化工, 2006, 23 (9): 887–890, 899.]
- [ 15 ] Ye S F. Research on promotive effects of fusarium wilt in *Cucumis sativus* by cinnamic acid, an autotoxin in root exudates of *Cucumis sativus* L., and mitigation mechanism by grafting and cinnamic acid-degrading microbial strains[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2004. [叶素芬. 黄瓜根系自毒物质对其根系病害的助长作用及其缓解机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2004.]
- [ 16 ] Wang N, Qi Y Z, Shi R R, et al. Manufacture of paraffin section on strawberry root and observation on the development of lateral root[J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 2013, 36 (3): 34–38. [王宁, 齐永志, 时荣荣, 等. 草莓根系的石蜡切片制作及侧根发育过程的观察[J]. 河北农业大学学报, 2013, 36 (3): 34–38.]
- [ 17 ] Yang R X, Gao Z G, Yao Y, et al. Allelopathic effects of phenolic compounds of melon root exudates on *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2014, 25 (8): 2355–2360. [杨瑞秀, 高增贵, 姚远, 等. 甜瓜根系分泌物中酚酸物质对尖孢镰孢菌的化感效应[J]. 应用生态学报, 2014, 25 (8): 2355–2360.]
- [ 18 ] Li S L. The mechanism research of tobacco bacterial wilt influenced by organic acid from root exudates[D]. Chongqing: Southwest University, 2017. [李石力. 有机酸类根系分泌物影响烟草青枯病发生的机制研究[D]. 重庆: 西南大学, 2017.]
- [ 19 ] Zhang N, Zhang R, Wu P, et al. Response of root exudates to watermelon /aerobic rice intercropping oriented to alleviate watermelon *Fusarium* wilt[J]. Acta Pedologica Sinica, 2014, 51 (3): 585–593. [张宁, 张如, 吴萍, 等. 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[J]. 土壤学报, 2014, 51 (3): 585–593.]
- [ 20 ] Xu W H, Wang Z G, Wu F Z. Companion cropping with wheat increases resistance to *Fusarium* wilt in watermelon and the roles of root exudates in watermelon root growth[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2015, 90: 12–20.
- [ 21 ] Ye X H, Lin X G, Wang Y M. Progress in research on pathogenic factors and related molecular biology of *Fusarium oxysporum*[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2011, 17 (5): 759–762. [叶旭红, 林先贵, 王一明. 尖孢镰刀菌致病相关因子及其分子生物学研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2011, 17 (5): 759–762.]
- [ 22 ] Li B J, Zhou C L, Zhao K H, et al. Pathogenic mechanism of scab of cucumber caused by *cladosporium cucumerinum* III effects and synergism of cell wall-degrading enzymes and toxin produced BYC. *Cucumerinum* on ultrastructure of cucumber[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2001, 31 (1): 63–69. [李宝聚, 周长力, 赵奎华, 等. 黄瓜黑星病菌致病机理的研究III细胞壁降解酶和毒素对寄主超微结构的影响及其协同作用[J]. 植物病理学报, 2001, 31 (1): 63–69.]
- [ 23 ] Gao F, Yue H D, Qin X M, et al. Research advances on cell wall degrading enzymes produced by pathogenic fusarium causing plant diseases[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2018, 34 (4): 955–960. [高芬, 岳焕弟, 秦雪梅, 等. 植物致病镰刀菌细胞壁降解酶的研究进展[J]. 江苏农业学报, 2018, 34 (4): 955–960.]
- [ 24 ] Wang Q R, Wu J X, Zhang R Q, et al. Analysis of cell wall degrading enzymes secreted by *Rhizoctonia solani* and its pathogenicity[J]. Plant Physiology Journal, 2016, 52 (3): 269–276. [王麒然, 吴菊香, 张茹琴, 等. 花生叶腐病菌分泌的细胞壁降解酶活性测定及致病性分析[J]. 植物生理学报, 2016, 52 (3): 269–276.]
- [ 25 ] Zhang M J, Wang H M, Wang S Z, et al. Research on the mechanism of plant defense against vascular pathogens[J]. Plant Physiology Journal, 2015, 51 (5): 601–609. [张明菊, 王红梅, 王书珍, 等. 植物对维管束病原菌的防卫反应机制研究进展[J]. 植物生理学报, 2015, 51 (5): 601–609.]
- [ 26 ] Guo J Y, Hu X F, Li Y, et al. Effect of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum* on photosynthesis and water physiological characteristics in cucumber[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2011, 34(1): 79–83. [郭晋云, 胡晓峰, 李勇, 等. 黄瓜枯萎病对黄瓜光合和水分生理特性的影响[J]. 南京农业大学学报, 2011, 34 (1): 79–83.]

- [ 27 ] Yang M. Investigation on autotoxic mechanism of ginsenosides from *Panax notoginseng* roots strains[D]. Kunming: Yunnan Agricultural University, 2015. [杨敏. 三七根系皂苷的自毒作用机制研究[D]. 昆明: 云南农业大学, 2015.]
- [ 28 ] Li Y, Wang Z, Long Q L, et al. Morphological response of ginseng root to benzoic acid and differential genes expression analysis[J]. *Modern Chinese Medicine*, 2017, 19 ( 7 ): 995–1000. [李勇, 王梓, 龙期良, 等. 人参幼根对苯甲酸胁迫的形态学响应及基因差异表达[J]. *中国现代中药*, 2017, 19 ( 7 ): 995–1000.]
- [ 29 ] Li W J, He P, Jin J Y. Effect of potassium on ultrastructure of maize stalk pith and young root and their relation to resistance to stalk rot[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43 ( 4 ): 729–736. [李文娟, 何萍, 金继运. 钾素对玉米茎髓和幼根超微结构的影响及其与茎腐病抗性的关系[J]. *中国农业科学*, 2010, 43 ( 4 ): 729–736.]
- [ 30 ] Li X G, Ding C F, Hua K, et al. Soil sickness of peanuts is attributable to modifications in soil microbes induced by peanut root exudates rather than to direct allelopathy[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 78: 149–159.

(责任编辑: 陈荣府)