

# 不同抗性蚕豆品种根系分泌物对枯萎病菌的化感作用及根系分泌物组分分析\*

董艳<sup>1</sup> 董坤<sup>2</sup> 郑毅<sup>1,3</sup> 杨智仙<sup>1</sup> 汤利<sup>1\*\*</sup> 肖靖秀<sup>1</sup>

(1. 云南农业大学资源与环境学院 昆明 650201; 2. 云南农业大学食品科技学院 昆明 650201;

3. 西南林业大学 昆明 650224)

**摘 要** 蚕豆枯萎病是土传病害,其发生与蚕豆根系分泌物有密切关系。本文以 3 个枯萎病不同抗性蚕豆品种——‘89-147’(高抗)、“8363”(中抗)和“云豆 324”(感病)为材料,通过水培试验收集根系分泌物,测定根系分泌物对镰刀菌孢子萌发和菌丝生长的影响,分析对枯萎病表现出不同抗性的蚕豆品种根系分泌物中糖、氨基酸和有机酸的含量,分离鉴定了根系分泌物中氨基酸和有机酸的组分。结果表明,抗病品种的根系分泌物抑制了尖孢镰刀菌的孢子萌发和菌丝生长,在加入 5 mL 中抗品种根系分泌物时,显著促进尖孢镰刀菌孢子萌发,但对菌丝生长无显著影响;而在加入 1 mL 感病品种根系分泌物时,就能显著促进尖孢镰刀菌孢子萌发和菌丝生长。不同抗性蚕豆品种根系分泌物中氨基酸总量和总糖含量随抗性的降低而升高,有机酸分泌总量则随蚕豆品种对枯萎病的抗性增加而升高。感病品种和中抗品种中检出 15 种氨基酸,而高抗品种中检出 14 种,组氨酸只存在于中抗品种中,脯氨酸仅在感病品种中检出,3 个蚕豆品种根系分泌物中均未检出精氨酸。蚕豆根系分泌物中天门冬氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸和亮氨酸含量高,可能会促进枯萎病的发生,而蛋氨酸、赖氨酸和丝氨酸含量高可能抑制枯萎病发生。酒石酸仅在抗病品种中存在,根系分泌物中有机酸种类丰富,有助于提高蚕豆对枯萎病的抗性。蚕豆对枯萎病的抗性不同,根分泌物对镰刀菌孢子萌发和菌丝生长的影响也不同,而这种抗病性差异与蚕豆根系分泌物中糖、氨基酸、有机酸的含量和组分密切相关。

**关键词** 蚕豆枯萎病 抗病性 根系分泌物组分 氨基酸 有机酸 化感作用

**中图分类号:** S435.23 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2014)03-0292-08

## Allelopathic effects and components analysis of root exudates of faba bean cultivars with different degrees of resistance to *Fusarium oxysporum*

DONG Yan<sup>1</sup>, DONG Kun<sup>2</sup>, ZHENG Yi<sup>1,3</sup>, YANG Zhixian<sup>1</sup>, TANG Li<sup>1</sup>, XIAO Jingxiu<sup>1</sup>

(1. College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

3. Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

**Abstract** Fusarium wilt is one of the most common and destructive soil-borne fungal diseases of faba bean because of continuous monocropping. It has been responsible for severely reduced yield, quality and production of faba bean, especially in Yunnan Province. Numerous studies on soil-borne diseases have mainly focused on changes in soil nutrients, enzyme and microbe. Little has remained known about the relationship between root exudates and soil-borne diseases. In fact, there has been less report confirming the occurrence of fusarium wilt in different cultivars of faba bean affected by different faba bean root exudates. The objectives of this study were to compare the differences in root exudates contents and components of different cultivars of faba bean. The study also aimed to lay the basis for further studies on resistance mechanism of faba bean fusarium wilt, which could in turn lay the basis for ecological control of faba bean fusarium wilt. Cultivars of different resistances to fusarium wilt were used in the experiment —

\* 国家自然科学基金项目(31060277, 31360507, 31260504)、国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2011CB100405)、农业部公益性行业科研专项课题(201103003)和云南省自然科学基金项目(2009CD059)资助

\*\* 通讯作者: 汤利, 研究方向为间作系统养分资源利用与病害控制。E-mail: lang@ynau.edu.cn

董艳, 研究方向为连作障碍的根际微生态调控。E-mail: dongyanyx@163.com

收稿日期: 2013-10-19 接受日期: 2014-01-13

‘89-147’ (high resistant cultivar), ‘8363’ (medium resistant cultivar) and ‘YD324’ (susceptible cultivar). Root exudates of the three cultivars of faba bean were collected in nutrient solution cultures. The effects of faba bean root exudates on spore germination and mycelia growth of *Fusarium oxysporum* f. *fabae* were determined using the culture medium method. The contents and components of organic acids were identified by HPLC while free amino acids were identified by amino acid analyzer. The content of soluble sugar was tested by anthrone colorimetry. The results suggested that compared with the control, root exudates of resistant cultivars inhibited spore germination and mycelia growth of *F. oxysporum*. Exudates of medium resistant cultivar promoted mycelia growth with the addition of 5 mL of root exudates, it otherwise had no significant effect on mycelia growth. Exudates of susceptible cultivar promoted spore germination and mycelia growth with the addition of 1 mL of root exudates. Total content of free amino acids and soluble sugar increased while organic acids decreased with increasing resistance of the three faba bean cultivars to fusarium wilt. Fifteen types of amino acids were detected in root exudates of medium resistant and susceptible faba bean cultivars while fourteen types of amino acids were detected in root exudates of high resistant faba bean cultivars. Histidine was found only in root exudates of medium resistant faba bean cultivar while praline was only in root exudates of susceptible faba bean cultivar. Arginine was not found in root exudates of the three faba bean cultivars. The occurrence and development of faba bean fusarium wilt were enhanced when the contents of aspartic, glutamate, phenylalanine, tyrosine and leucine in root exudates were high. Faba bean fusarium wilt was inhibited when the contents of methionine, lysine and serine in root exudates were high. Tararic was detected only in root exudates of high resistant cultivar. The richness of organic acid species in root exudations enhanced faba bean resistance to fusarium wilt. Root exudates of different resistance faba bean cultivars had different effects on *F. oxysporum*. These differences were related to the contents and components of soluble sugars, free amino acids and organic acids in root exudates of different faba bean cultivars.

**Keywords** Faba bean fusarium wilt; Disease resistance; Root exudates component; Amino acid; Organic acid; Allelopathic effect

(Received Oct. 19, 2013; accepted Jan. 13, 2014)

土传病害的严重发生是我国农业生产中长期存在的问题,其产生已有上千年历史,多年来对其产生原因及机理已经开展了大量研究并取得了显著进展。大量研究表明,土传病害发生是多种因素共同作用的结果,但土壤微生态失衡,尤其是土壤微生物区系失衡是导致土传病害高发的根本原因<sup>[1]</sup>。对多种土传病害的研究结果表明,根系分泌物的细小变化均会导致包括土壤病原菌在内的根际微生物区系的极大变化,它是联系植物和根际土壤微生物的重要媒介<sup>[2]</sup>。抗、感品种的生化性质差异在抗病中发挥作用,并且这种差异可通过根系分泌物反映出来<sup>[3]</sup>。不同植物种类或同一植物不同基因型的根系分泌物在组成和数量上均存在差异<sup>[4]</sup>。

根系分泌物中含有诸如糖、氨基酸和有机酸等物质,对根际微生物的选择性促进发挥着重要作用<sup>[4]</sup>。潘凯等<sup>[5]</sup>研究发现,不同抗性黄瓜品种根系分泌物对根区土壤的真菌数量增长有促进作用,尤其是对尖孢镰刀菌的增加具有明显促进作用,且感病品种的促进作用大于抗病品种,并认为这可能与根系分泌物中氨基酸的种类和数量有关。周宝利等<sup>[6]</sup>对不同抗性茄子根系分泌物进行研究,结果表明抗病类型的根系分泌物既可直接影响黄萎菌的生长、发育,又可通过调节土壤微生物种群结构间接影响黄萎菌的生长,达到抗病效果,而感病类型则相反。感病西瓜品种根系分泌物中的可溶性糖含量及游离氨基酸含量和种类显著多于抗病品种<sup>[7]</sup>。袁虹霞等<sup>[8]</sup>对7个

不同抗性棉花品种根系分泌物进行研究,结果发现棉花对黄萎病等土传病害的抗性与根系分泌物对病菌的作用有密切关系,感病品种根系分泌物中含有较大数量和较多种类的氨基酸,而苯丙氨酸、脯氨酸等仅出现在感病品种的根系分泌物中,抗病品种根系分泌物中糖类物质含量明显低于感病品种。大豆根系分泌物中有机酸的差异可能是造成连作条件下品种间抗病性不同的原因之一<sup>[9]</sup>。

蚕豆是重要的豆科作物,在世界范围内种植的国家超过70个,中国的蚕豆种植面积和产量居世界首位<sup>[10]</sup>。蚕豆是典型的忌连作作物,近年来蚕豆的连作障碍非常普遍且日益严重,连作土传病害已成为制约我国蚕豆生产的重要因素,其中枯萎病是蚕豆连作障碍的主要病害之一。我国蚕豆主产区枯萎病发病非常严重,而云南省是枯萎病发生最重的省份<sup>[11]</sup>。我们在前期研究中发现不同蚕豆品种对枯萎病的抗性存在明显差异,但有关蚕豆枯萎病不同抗性品种抗性存在差异的原因尚不清楚,对枯萎病表现不同抗性的蚕豆(*Vicia faba* L.)品种根系分泌物对枯萎病菌——尖孢镰刀菌的影响,以及根系分泌物组分和含量方面的差异研究还鲜见报道。本研究通过水培试验,以3个对枯萎病具有不同抗性的蚕豆品种为材料,收集其根系分泌物,研究不同抗枯萎病的蚕豆品种根系分泌物对尖孢镰刀菌孢子萌发和菌丝生长的影响,并分析根系分泌物组分和含量,旨在比较枯萎病不同抗性蚕豆品种根系分泌物

中可溶性糖、游离氨基酸、有机酸含量和组分的差异,以期找到蚕豆根系分泌物差异与蚕豆品种抗性的关系,为进一步深入研究蚕豆枯萎病抗性机制奠定基础,为寻找蚕豆枯萎病的生态防治提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

经前期品种筛选试验,选择对枯萎病表现出不同抗性的蚕豆品种:高抗品种(‘89-147’)、中抗品种(‘8363’)和感病品种(‘云豆324’)为试验材料。尖孢镰刀菌菌种为尖孢镰刀菌蚕豆专化型 *Fusarium oxysporum* f. *fabae*(FOF,由本试验室筛选和保存),在PAD平板上培养。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 根系分泌物收集

试验以3个供试蚕豆品种为处理,每个处理3次重复,采用完全随机排列。挑选大小、饱满度一致,种皮完整的蚕豆种子,10%的 $H_2O_2$ 浸泡30 min,用去离子水清洗干净,再用饱和 $CaSO_4$ 浸泡12 h至种子发胀。用湿润滤纸包裹,浸放在饱和 $CaSO_4$ 溶液中,置于25℃黑暗培养室中发芽,出芽后正常光照下培养,待子叶展开后(约5 cm高)移入1/2营养液中培养24 h后再移入全营养液中培养。所用营养液配方为(单位: $mmol\cdot L^{-1}$ ): $Ca(NO_3)_2$  2.0,  $K_2SO_4$  0.75,  $MgSO_4$  0.65,  $KCl$  0.1,  $KH_2PO_4$  0.25,  $H_3BO_3$  0.001,  $MnSO_4$  0.001,  $CuSO_4$  0.000 1,  $ZnSO_4$  0.001,  $(NH_4)_6Mo_7O_{24}$  0.000 005,  $Fe-EDTA$  0.20。每盆种植蚕豆6株,营养液体积为4 L,每3 d换1次营养液,营养液pH保持在6.20~6.30。

蚕豆催芽后培养40 d(蚕豆分枝期)时收集根系分泌物,具体收集方法为:先光照2 h后,将1盆中6株蚕豆植株从培养溶液中取出,6株蚕豆根系用去离子水冲洗4次,将根系转至通气、盛有100 mL收集液(pH 5.6,包括 $200\ \mu mol\cdot L^{-1}$   $MgCl_2$ 、 $100\ \mu mol\cdot L^{-1}$   $KCl$ 、 $600\ \mu mol\cdot L^{-1}$   $CaCl_2$ 和 $5\ \mu mol\cdot L^{-1}$   $H_3BO_3$ )的避光容器(锡箔纸包住塑料杯)中,将根系没入收集液液面开始计时,收集时间为2 h,然后将根放回培养容器中。取分泌物溶液约20 mL放入50 mL离心管中,加入2~3滴微生物抑制剂(即浓度为98%的浓磷酸,可抑制微生物活性,防止微生物分解分泌物溶液中的有机组分),用于根系分泌物组分和含量分析;另取一份同样为20 mL放入50 mL离心管中,不加任何微生物抑制剂(用于抑菌试验),迅速放入-20℃冰箱冷冻、保存,用于根系分泌物对镰刀菌孢子萌发和菌丝生长影响试验。

#### 1.2.2 根系分泌物对尖孢镰刀菌 FOF 的影响

##### 1.2.2.1 孢子萌发

采用2%(W/V)水琼脂平板进行试验,设3个处理,分别为CK(无菌水对照)、R1(加入1 mL根系分泌物)和R2(加入5 mL根系分泌物),每个处理重复3次。在28℃培养7 d后,将平板上的尖孢镰刀菌菌落用无菌水洗下,4层纱布过滤收集孢子并稀释成浓度 $\leq 1\times 10^3\ cfu\cdot mL^{-1}$ 的孢子悬液,每平板涂布0.1 mL的孢子悬液,28℃培养2 d后记录平板菌落数。

##### 1.2.2.2 菌丝生长的测定

分别取0 mL、1 mL和5 mL根系分泌物与20 mL、19 mL和15 mL已融化并冷却到40℃的灭菌PDA培养基均匀混合后倒入培养皿中。用直径0.8 cm的打孔器打取生长一致、培养基厚度一致的等龄尖孢镰刀菌菌饼接种至制备好的平板中心,28℃培养6 d测量菌落直径,每处理重复3次。

##### 1.2.3 根系分泌物组分和含量测定

从冰箱中取出装有根系分泌物的离心管解冻、用 $0.25\ \mu m$ 微孔滤膜过滤除菌。根系分泌物有机酸组分及含量使用高效液相色谱仪(Waters 2695)测定,条件是250 mm×4.6 mm  $C_{18}$ 反相柱(Alltima C-18),流动相 $25\ mmol\cdot L^{-1}$   $KH_2PO_4$  (pH 2.25),流速 $1\ mL\cdot min^{-1}$ ,温度为31℃,测定波长为214 nm,进样量为20  $\mu L$ 。氨基酸分析采用氨基酸自动分析仪(L8800)测定。糖含量测定采用蒽酮比色法进行<sup>[12]</sup>。

### 1.3 数据处理

采用SAS 9.0软件对试验数据进行单因素方差分析和主成分分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同抗性蚕豆品种根系分泌物对 FOF 孢子萌发和菌丝生长的影响

从图1A可看出,蚕豆根系分泌物显著促进了FOF的萌发( $F=86.34$ ,  $P<0.01$ ),但不同蚕豆品种间存在一定差异。当加入1 mL根系分泌物时,与加入无菌水的对照相比,‘89-147’和‘8363’的FOF孢子萌发数与对照之间无显著差异;而‘云豆324’的根系分泌物则显著促进了FOF的萌发,使孢子萌发率提高了52.77%。当加入5 mL根系分泌物时,‘89-147’根系分泌物使FOF孢子萌发率显著降低16.24%,而‘8363’和‘云豆324’的根系分泌物均显著促进了FOF萌发,与对照相比,‘8363’和‘云豆324’分别使FOF萌发率提高23.62%和80.07%。表明‘云豆324’根系分泌物在较低浓度时就能显著促进FOF的萌发,而‘89-147’根系分泌物在浓度达到一定水平时能显著抑制FOF孢子的萌发。相同浓度时,蚕豆根系分泌物对FOF孢子萌发的影响表现为‘云豆324’高于‘8363’。

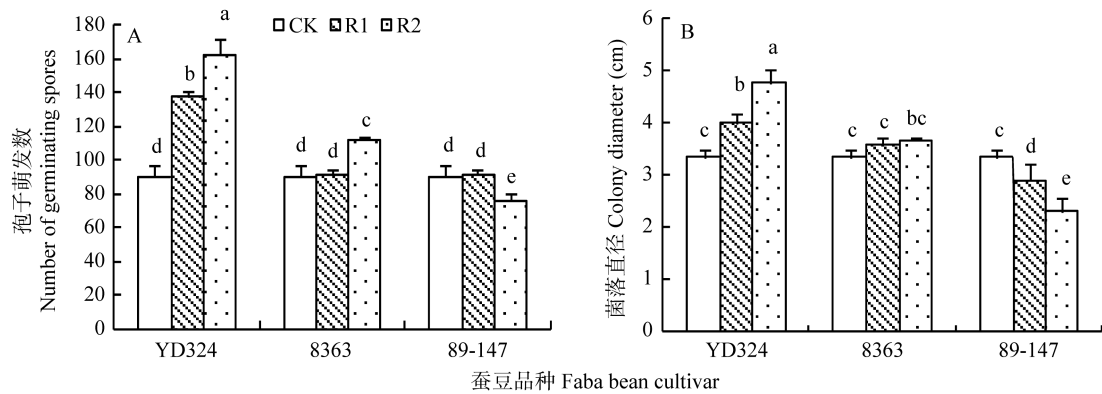


图 1 不同蚕豆品种的根系分泌物对尖孢镰刀菌孢子萌发(A)和菌落直径(B)的影响

Fig. 1 Effects of root exudates of three faba bean cultivars on spore germination and mycelia growth of *Fusarium oxysporum f. fabae*  
图中不同字母表示 0.05 水平下的差异显著性( $P<0.05$ )。CK: 无菌水对照; R1: 1 mL 根系分泌物; R2: 5 mL 根系分泌物。Different letters indicate significant difference at 0.05 level. CK: water control; R1: 1 mL root exudates; R2: 5 mL root exudates.

从图1B可看出,蚕豆根系分泌物对FOF菌丝生长具有显著影响( $F=37.72$ ,  $P<0.01$ )。3个蚕豆品种根系分泌物对FOF菌丝生长的影响与其对孢子萌发影响的规律相似,即对‘89-147’品种来说,与对照相比,加入1 mL和5 mL根系分泌物对FOF菌丝生长均显著抑制了FOF菌丝生长,分别比对照降低13.00%和31.00%。而对‘8363’来说,加入1 mL和5 mL根系分泌物对FOF菌丝生长均无显著影响。加入1 mL和5 mL‘云豆324’根系分泌物均显著促进了FOF菌丝生长,与对照相比,当加入1 mL根系分泌物时,‘云豆324’的根系分泌物使FOF菌丝直径增加20.00%;当加入5 mL根系分泌物时,根系分泌物使FOF菌丝直径增加

43.00%。表明‘89-147’品种根系分泌物抑制了FOF菌丝生长,‘8363’品种根系分泌物对菌丝生长无显著影响,而‘云豆324’品种根系分泌物则促进了菌丝生长。

2.2 不同抗性蚕豆品种根系分泌物中游离氨基酸、有机酸和糖的总含量

从表 1 可看出,3 个蚕豆品种根系分泌物中游离氨基酸总量以‘云豆 324’最高,‘89-147’最低,3 个品种间差异达到显著水平( $F=233.58$ ,  $P<0.01$ )。‘8363’和‘89-147’根系分泌物中游离氨基酸含量显著低于‘云豆 324’,分别低 52.42%和 64.43%,同时‘89-147’根系分泌物中游离氨基酸含量比‘8363’显著低 25.27%。

表 1 不同蚕豆品种根系分泌物中游离氨基酸、有机酸和总糖含量

Table 1 Total contents of free amino, organic acid and soluble sugar in root exudates of different faba bean cultivars

根系分泌物种类 Root exudates type	蚕豆品种 Faba bean cultivar		
	云豆 324 YD324	8363	89-147
游离氨基酸 Free amino acids [mg·g <sup>-1</sup> (DW)]	4.33a	2.06b	1.54c
有机酸 Organic acids [μmol·g <sup>-1</sup> (DW)]	2.22b	4.33b	12.41a
可溶性总糖 Soluble sugar [mg·g <sup>-1</sup> (DW)]	12.41a	7.23b	4.50b

同行中不同字母表示 0.05 水平下的差异显著性。Different letters in a row indicate significant difference at 0.05 level.

3 个蚕豆品种根系分泌物中有机酸总量与氨基酸含量呈相反变化规律,即以‘云豆 324’最低,‘89-147’最高,3 个品种间差异达到显著水平( $F=82.2$ ,  $P<0.05$ ),‘89-147’根系分泌物中有机酸含量比‘云豆 324’和‘8363’分别高 459.0%和 186.4%,而‘云豆 324’和‘8363’间无显著差异。

3 个蚕豆品种根系分泌物中可溶性总糖含量与氨基酸含量呈相同变化趋势,即‘云豆 324’>‘8363’>‘89-147’,且‘云豆 324’根系分泌物中总糖含量显著高于‘8363’和‘89-147’,而‘8363’和‘89-147’品种间无显著差异。

2.3 不同抗性蚕豆品种根系分泌物中游离氨基酸的种类和含量

从图2可看出,3 个蚕豆品种根系分泌物中共检

出16种氨基酸,分别是天门冬氨酸(Asp)、苏氨酸(Thr)、丝氨酸(Ser)、谷氨酸(Glu)、甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)、胱氨酸(Cys)、缬氨酸(Val)、蛋氨酸(Met)、异亮氨酸(Ile)、亮氨酸(Leu)、酪氨酸(Tyr)、苯丙氨酸(Phe)、赖氨酸(Lys)、组氨酸(His)、脯氨酸(Pro)。其中组氨酸只存在于‘8363’中,而脯氨酸仅在‘云豆324’中检测到,其他14种氨基酸在3个品种中均存在。

不同抗性蚕豆品种中各种氨基酸含量以‘云豆 324’最高,而‘8363’和‘89-147’中各种氨基酸含量总体上低于‘云豆324’。3个蚕豆品种根系分泌物中各种氨基酸含量以天门冬氨酸最高,其次为谷氨酸。从天门冬氨酸的含量来看,‘89-147’品种比‘云豆324’和

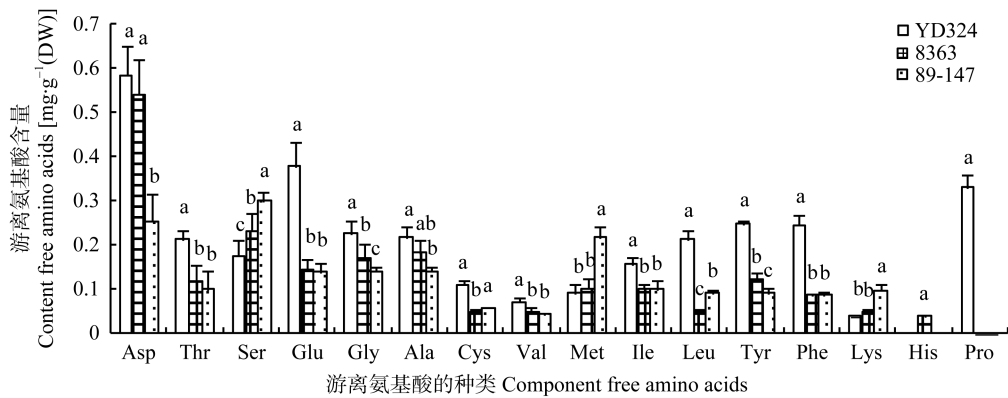


图 2 不同蚕豆品种根系分泌物中游离氨基酸组分及其含量

Fig. 2 Component and contents of free amino acids in root exudates of different faba bean cultivars

图中不同字母表示不同蚕豆品种间 0.05 水平下的差异显著性( $P<0.05$ )。Different letters indicated significant difference among different faba bean cultivars at 0.05 level.

‘8363’显著低56.5%和53.1%，但‘云豆324’和‘8363’品种间无显著差异。‘8363’和‘89-147’中谷氨酸含量均比‘云豆324’显著低61.5%和63.4%。

‘89-147’中丝氨酸、蛋氨酸和赖氨酸含量均显著高于‘云豆324’，分别比‘云豆324’高71.1%、139.4%和159.8%，‘8363’和‘云豆324’间蛋氨酸和赖氨酸含量无显著差异。‘8363’和‘89-147’中苏氨酸、谷氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸和苯丙氨酸含量均显著低于‘云豆324’，但‘8363’和‘89-147’品种间无显著差异。‘8363’中苏氨酸、谷氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸和苯丙氨酸含量分别比‘云豆324’低44.5%、61.5%、16.0%、32.5%、34.7%和64.5%。‘89-147’中苏氨酸、谷氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸和苯丙氨酸含量分别比‘云豆324’低53.4%、63.4%、34.4%、39.0%、35.3%和64.8%。

甘氨酸和酪氨酸含量均以‘云豆324’最高，‘8363’和‘89-147’中甘氨酸和酪氨酸含量均显著低于‘云豆324’，‘8363’和‘89-147’中甘氨酸含量比‘云豆324’低23.5%和37.2%，‘8363’和‘89-147’中酪氨酸含量比‘云豆324’低49.8%和62.5%，且‘89-147’根系分泌物中甘氨酸和酪氨酸含量也显著低于‘8363’。

2.4 不同抗性蚕豆品种根系分泌物中有机酸种类和含量

从3个蚕豆品种根系分泌物中有机酸含量来看(表2)，酒石酸仅在‘89-147’中被检出，而苹果酸的含量表现为‘89-147’>‘8363’>‘云豆324’，且3个品种间达到显著差异。柠檬酸含量则表现为‘89-147’显著低于‘云豆324’和‘8363’，而‘云豆324’和‘8363’品种间无显著差异。3个蚕豆品种中延胡索酸的含量最低，且在‘云豆324’中未检出延胡索酸。

表 2 不同蚕豆品种根系分泌物中各种有机酸含量及百分比

Table 2 Percentage and content of organic acids in root exudates of different faba bean cultivars

有机酸种类 Organic acids type	含量 Content [μmol·g <sup>-1</sup> (DW)]			百分比 Percentage (%)		
	云豆 324 YD324	8363	89-147	云豆 324 YD324	8363	89-147
酒石酸 Tartaric	—	—	5.925a	—	—	47.731
苹果酸 Malic	1.905c	3.986b	6.283a	85.788	91.964	50.610
柠檬酸 Citric	0.316a	0.313a	0.202b	14.212	7.230	1.629
延胡索酸 Fumaric	—	0.035a	0.004b	—	0.806	0.030

“—”表示未检出。‘—’ means not detected.

从不同蚕豆品种有机酸的百分比来看(表2)，‘云豆324’根系分泌物中有机酸仅检测到2种(苹果酸和柠檬酸)，且苹果酸的百分比高达85.8%；‘8363’中检测到3种(苹果酸、柠檬酸和延胡索酸)，但主要以苹果酸为主，百分比为92.0%；‘89-147’品种中检测到4种有机酸(酒石酸、苹果酸、柠檬酸和延胡索酸)，以酒石酸和苹果酸为主，酒石酸和苹果酸的百分比分别为47.7%和50.6%。

3 讨论

3.1 不同抗性蚕豆品种根系分泌物对镰刀菌的影响

大量研究表明，根系分泌物中的氨基酸、糖、有机酸等成分能够为土传病原菌生存提供必要的碳源和氮源，对病原菌的繁殖或孢子萌发有明显促进作用，并抑制有益生物生长，造成根际微生态系统失衡，有助于病害的发生及为害程度的加重<sup>[5,7,13]</sup>，

另外,一些根系分泌物组分对土传病原菌繁殖或孢子萌发有明显的抑制作用<sup>[14]</sup>。郝文雅等<sup>[7]</sup>的研究表明,对枯萎病表现出不同抗性的西瓜根系分泌物中氨基酸和糖的组分及含量均不同。黄奔立等<sup>[15]</sup>对黄瓜的研究表明,抗性品种的根系分泌物降低了枯萎病发病率,而感病品种的根系分泌物则提高了发病率。在棉花上,抗病品种根系分泌物对黄萎病菌孢子萌发和菌丝生长有一定抑制作用,而感病品种根系分泌物则具有刺激病菌生长的作用<sup>[8]</sup>。本研究结果表明,抗病品种‘89-147’根系分泌物显著抑制了FOF孢子萌发和菌丝生长;中抗品种‘8363’根系分泌物在加入5 mL时促进FOF孢子萌发,但对菌丝生长无显著影响;感病品种‘云豆324’根系分泌物在加入1 mL时即促进了FOF孢子萌发和菌丝生长,本研究结果与前人在其他作物上的研究结果相似。

### 3.2 不同抗性蚕豆品种根系分泌物中氨基酸组分及其含量的差异

根系分泌物中的氨基酸对病原菌的影响因氨基酸种类、数量以及作物种类、品种抗性而存在较大差异<sup>[5]</sup>。相对于抗病品种,感病品种根系分泌的氨基酸种类多、数量大,造成根际病菌生长迅速,增加了根腐病发病率<sup>[5]</sup>。本研究结果表明,3个蚕豆根系分泌物中氨基酸总量表现为感病品种>中抗品种>高抗品种的规律,且高抗和中抗品种与感病品种间差异达到显著水平。大豆根腐病感病品种‘合丰25号’根系分泌物中共检测出16种氨基酸,抗病品种‘绥农10号’根系分泌的氨基酸有14种<sup>[16]</sup>。感病西瓜品种根系分泌物中共检测出14种游离氨基酸,抗病西瓜品种根系分泌物中含有13种游离氨基酸,不含酪氨酸<sup>[13]</sup>。棉花黄萎病不同抗性品种根系分泌物中,苯丙氨酸和脯氨酸是感病品种所特有,丙氨酸只在感病品种根系分泌物中发现<sup>[8]</sup>。不同抗枯萎病的黄瓜根系分泌物中游离氨基酸种类不同,精氨酸只在中抗品种中被检出<sup>[5]</sup>。本研究中,感病品种和中抗品种根系分泌物中共检测出15种氨基酸,而抗病品种根系分泌物中检出14种,组氨酸只存在于中抗品种中,脯氨酸仅在感病品种中检测到,3个蚕豆品种根系分泌物中均未检出精氨酸。本研究与其他作物不同抗性品种的研究结果总体相似,但也有不同之处,如只存在于黄瓜枯萎病抗性品种中的精氨酸在蚕豆不同抗性品种均未检测到。表明不同作物及同一作物不同基因型根系分泌物中氨基酸种类确实存在差异,且这些差异与抗病性密切相关。

Marschner<sup>[17]</sup>的研究表明,谷氨酸、天门冬氨酸和丙氨酸是病原菌最好的氮源,这些氨基酸含量高

时极易感病。西瓜感病品种根系分泌物中各种游离氨基酸含量较高,其中含量较大的前5种氨基酸依次为丙氨酸、苏氨酸、丝氨酸、亮氨酸、甘氨酸,高抗品种中含量明显低于感病品种<sup>[7]</sup>。本研究中,感病品种根系分泌物中含量较高的是天门冬氨酸、谷氨酸、脯氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸。蚕豆根系分泌物中丝氨酸、蛋氨酸和赖氨酸含量以抗病品种高于感病品种,而其他氨基酸含量均表现为抗病品种低于感病品种。不同抗性蚕豆品种间含量差别较大的氨基酸是蛋氨酸、赖氨酸、丝氨酸、苯丙氨酸、谷氨酸、酪氨酸、亮氨酸和天门冬氨酸,表明这几种氨基酸含量的高低可能对枯萎病的发生和发展存在较大影响。

### 3.3 不同抗性蚕豆品种根系分泌物中有机酸组分及其含量的差异

不同品种大豆根系分泌有机酸的数量和种类存在差异,而根系分泌物影响着根际微生物的变化,大豆根系分泌物中有机酸的差异是品种抗根腐病菌的原因之一<sup>[18]</sup>。本研究结果表明,根系有机酸分泌总量表现为感病品种<中抗品种<高抗品种的规律,感病和中抗品种根系分泌物中有机酸总量显著低于高抗品种。根际环境中低分子量有机酸对根表细菌的繁殖起着重要作用,西瓜根系分泌的有机酸,特别是苹果酸和柠檬酸能使有益的芽孢杆菌SQR-21向其趋化运动而增加芽孢杆菌在西瓜根表的繁殖,最终抑制镰刀菌侵染,减轻西瓜枯萎病的危害<sup>[19]</sup>。不同抗性大豆品种根系分泌物中苹果酸、酒石酸和琥珀酸均对尖孢镰刀菌菌丝生长具有抑制作用<sup>[18]</sup>。

本研究中,感病品种‘云豆324’根系分泌物中有机酸仅检测到2种(苹果酸和柠檬酸),而中抗品种‘8363’中检测到3种有机酸(苹果酸、柠檬酸和延胡索酸),高抗品种‘89-147’中检测到4种有机酸(酒石酸、苹果酸、柠檬酸和延胡索酸)。感病品种和中抗品种均主要以分泌苹果酸为主;而抗病品种以分泌酒石酸和苹果酸为主,苹果酸的含量表现为抗病品种>中抗品种>感病品种。在有机酸组分中,酒石酸仅在高抗品种中存在,而延胡索酸在感病品种中不存在。表明酒石酸和延胡索酸对枯萎病的发生具有重要影响。苹果酸在3个品种中均存在,但其对枯萎病的影响主要决定于其含量,即根系分泌物中苹果酸含量越高,抗病性可能越强。

### 3.4 不同抗性蚕豆品种根系分泌物中糖含量的差异

作为碳氮比营养需要较高的异养病原微生物,尖孢镰刀菌生长受糖类物质的促进<sup>[7]</sup>。棉花抗病品

种根系分泌物中糖类物质含量明显低于感病品种<sup>[20]</sup>。

玉米茎腐病感病品种‘吉单 327’根系分泌的总糖、还原糖和蔗糖含量均高于抗病品种‘吉单 180’<sup>[21]</sup>。本研究结果表明,蚕豆中抗品种和高抗品种根系分泌物中总糖含量显著低于感病品种,与上述研究结果相同。Kravachenko 等<sup>[22]</sup>的研究表明,作物不同品种根系分泌物中糖组分的差异通过影响根际微生物的生长而影响其对病害的抗性。表明根系分泌物中总糖含量对品种抗病性有着重要影响,同时作物品种的抗病能力可能更多地受糖组分影响。因此,以后需加强根系分泌物中糖组分的分析鉴定及不同糖组分对病原菌萌发和生长影响的研究。

## 参考文献

- [1] Janvier C, Villeneuve F, Alabouvette C, et al. Soil health through soil disease suppression: Which strategy from descriptors to indicators?[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2007, 39(1): 1–23
- [2] Dennis P G, Miller A J, Hirsch P R. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities?[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2010, 72(3): 313–327
- [3] Badri D V, Vivanco J M. Regulation and function of root exudates[J]. Plant, Cell and Environment, 2009, 32(6): 666–681
- [4] Rengel Z. Genetic control of root exudation[J]. Plant and Soil, 2002, 245(1): 59–70
- [5] 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[J]. 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[J]. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(5): 1945–1950
- [6] 周宝利, 陈志霞, 杜亮, 等. 不同抗病性茄子根系分泌物对黄萎菌的化感作用[J]. 生态学报, 2011, 31(14): 3964–3972  
Zhou B L, Chen Z X, Du L, et al. Allelopathy of the root exudates from different resistant eggplants to verticillium wilt (*Verticillium dahliae* Kleb)[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(14): 3964–3972
- [7] 郝文雅, 沈其荣, 冉炜, 等. 西瓜和水稻根系分泌物中糖和氨基酸对西瓜枯萎病病原菌生长的影响[J]. 南京农业大学学报, 2011, 34(3): 77–82  
Hao W Y, Shen Q R, Ran W, et al. The effects of sugars and amino acids in watermelon and rice root exudates on the growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. Niveum[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2011, 34(3): 77–82
- [8] 袁虹霞, 李洪连, 王烨, 等. 棉花不同抗性品种根系分泌物分析及其对黄萎病菌的影响[J]. 植物病理学报, 2002, 32(2): 127–131  
Yuan H X, Li H L, Wang Y, et al. The root exudates of cotton cultivars with the different resistance and their effects on *Verticillium dahliae*[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2002, 32(2): 127–131
- [9] 张俊英, 王敬国, 许永利, 等. 氮素对不同大豆品种根系分泌物中有机酸的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2007, 13(3): 398–403  
Zhang J Y, Wang J G, Xu Y L, et al. Effect of nitrogen on the species and contents of organic acids in root exudates of different soybean cultivars[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2007, 13(3): 398–403
- [10] Jensen E S, Peoples M, Hauggaard-Nielsen H. Faba bean in cropping systems[J]. Field Crops Research, 2010, 115(3): 203–216
- [11] 叶茵. 中国蚕豆学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003  
Ye Y. Chinese Faba Beans[M]. Beijing: Agricultural Press of China, 2003
- [12] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000  
Li H S. Experimental Principle and Technology for Plant Physiology and Biochemistry[M]. Beijing: High Education Press, 2000
- [13] Broeckling C D, Broz A K, Bergelson J, et al. Root exudates regulate soil fungal community composition and diversity[J]. Applied and Environment Microbiology, 2008, 74(3): 738–744
- [14] 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: 485–497
- [15] 黄奔立, 许云东, 伍烨, 等. 两个不同抗性黄瓜品种和云南黑籽南瓜根系分泌物对黄瓜枯萎病发生的影响[J]. 应用生态学报, 2007, 18(3): 559–563  
Huang B L, Xu Y D, Wu Y, et al. Effects of root exudates from cucumber and squash on *Fusarium* wilt occurrence[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2007, 18(3): 559–563
- [16] 张俊英, 王敬国, 许永利. 大豆根系分泌物中氨基酸对根腐病菌生长的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2008, 14(2): 308–315  
Zhang J Y, Wang J G, Xu Y L. Effect of amino acids from soybean root exudates on hyphal growth of pathogenic fungi of soybean root rot[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2008, 14(2): 308–315
- [17] Marschner H. Mineral Nutrition of Higher Plants[M]. London: Academic Press, 1986: 341–368
- [18] 张俊英. 不同抗性大豆品种根系分泌物的化感效应及其组分分析[D]. 北京: 中国农业大学, 2007  
Zhang J Y. Allelopathy effects of different resistance soybean varieties root exudates and its component analysis[D]. Beijing: China Agricultural University, 2007
- [19] Li 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[J]. European Journal of Soil Biology, 2011, 47(6): 374–379
- [20] 刘素萍, 王汝贤, 张荣, 等. 根系分泌物中糖和氨基酸对棉花枯萎菌的影响[J]. 西北农业大学学报, 1998, 26(6): 30–35  
Liu S P, Wang R X, Zhang R, et al. Effects of sugar and amino

acid in root exudation of different resistant cotton cultivars on cotton fusarium wilt pathogen[J]. Journal of Northwest Agricultural University, 1998, 26(6): 30-35

[21] 刘晓燕, 何萍, 金继运. 氯化钾对玉米根系糖和酚酸分泌的影响及其与茎腐病菌生长的关系[J]. 植物营养与肥料学报, 2008, 14(5): 929-934

Liu X Y, He P, Jin J Y. Effect of potassium chloride on the

exudation of sugars and phenolic acids by maize root and its relation to growth of stalk rot pathogen[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2008, 14(5): 929-934

[22] Kravachenko L V, Shapozhnikov A I, Makarova N M, et al. Exometabolites of bread wheat and tomato affecting the plant-microbe interactions in the rhizosphere[J]. Russian of Plant Physiology, 2011, 58(5): 936-940

## 欢迎报考

### 中国科学院遗传与发育生物学研究所农业资源研究中心

中国科学院遗传与发育生物学研究所农业资源研究中心(以下简称中心)的前身为中国科学院石家庄农业现代化研究所, 2002 年与中国科学院遗传与发育生物学研究所整合后更名为“中国科学院遗传与发育生物学研究所农业资源研究中心”, 保留独立事业单位法人资格。

本中心面向国家水安全、粮食安全、生态环境安全的重大战略需求和农业资源与生态学前沿领域, 以农业水资源高效利用为重点, 在节水理论与技术、农业生物技术、生态系统及信息管理等领域, 开展应用基础研究, 集成创新资源节约型现代农业模式, 为区域农业持续发展做出了基础性、战略性、前瞻性贡献。

#### 1 研究生招生

作为中国科学院博士及硕士学位培养单位之一, 中心招收生态学学术型硕士、博士研究生, 生物工程全日制专业学位硕士研究生, 鼓励优秀学生硕博连读。针对推免生, 凡参加并通过我中心面试, 如未能获得所在院校推免名额, 第一志愿报考我中心参加统考时, 可免再次复试。

#### 2 研究生培养

中心具有一支结构合理、经验丰富、学术造诣深的导师队伍。博士生导师 20 名, 硕士生导师 25 名。研究生作为中心科研工作的生力军在相关研究领域做出了突出成绩。曾荣获中国科学院院长奖、朱李月华奖学金以及各种冠名奖学金和中国科学院遗传与发育生物学研究所振声奖学金、益海嘉里奖学金等。导师关注每一位学生的成长, 注重研究生创新能力的培养。积极引导研究生开展跨学科和跨地区的社会实践, 邀请海内外知名学者参加研究生的培养工作, 举办形式多样的学术研讨会与报告会, 为人才的成长营造良好的环境和氛围。另外中心有研究生学生会、研究生党支部和各种社团, 同学们的业余生活丰富多彩。

#### 3 研究生待遇

研究生在学期间享有相应的研究助理薪金, 硕士生每年 25 000 元左右, 博士生每年 35 000 元左右, 定向和委培生也有机会获得三助岗位津贴。此外, 部分优秀学生每年可获得中国科学院研究生院奖学金、冠名奖学金等奖励。2010 年新建的学生公寓, 宽敞明亮(两人/间), 具有独立卫生间和淋浴条件, 中心食堂伙食可口且价位低, 深受同学好评。

#### 4 研究生就业

研究生毕业后多数赴国内外大学、科研院所等企事业单位就职或从事博士后研究工作, 平均就业率为 97.6%(2006—2012 年数据统计)。

#### 5 联系方式

招生代码: 学校代码: 80001 院系代码: 80156

单位网址: <http://www.sjziam.cas.cn>

联系部门: 人事教育部门

联系人: 王老师 毛老师

联系电话: 0311-85801050; 0311-85814366