

野生茄对茄子

黄萎病菌的化感作用及利用研究

野生茄浸提物和腐解物对茄子黄萎病菌的化感作用

野生茄浸提物和腐解物的抑菌物质研究

野生茄浸提物和腐解物对茄子植株抗病的调控

野生茄根际土壤的化感潜力研究

李云鹏·著

YESHENGQIE DUI QIEZI
HUANGWEIBINGJUN DE HUAGAN
ZUOYONG
JI LIYONG YANJIU





YESHENGQIE DUI QIEZI
HUANGWEIBINGJUN DE HUAGAN
ZUOYONG
JI LIYONG YANJIU

野生茄浸提物和腐解物对茄子黄萎病菌的化感作用
野生茄浸提物和腐解物的抑菌物质研究
野生茄浸提物和腐解物对茄子植株抗病的调控
野生茄根际土壤的化感潜力研究
李云鹏·著

生茄对茄子 萎病菌的化感作用及利用研究

图书在版编目 (CIP) 数据

野生茄对茄子黄萎病菌的化感作用及利用研究/李云鹏著. -- 哈尔滨: 黑龙江大学出版社, 2009. 12
ISBN 978 - 7 - 81129 - 229 - 9

I. ①野… II. ①李… III. ①茄子—黄萎病—防治—研究 IV. ①S436.411

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 231182 号

责任编辑 惠秀梅 赵丽华

封面设计 良 尚

野生茄对茄子黄萎病菌的化感作用及利用研究

YESHENGQIE DUI QIEZI HUANGWEIBINGJUN DE HUAGANZUOYONG JI LIYONG YANJIU

李云鹏 著

出版发行	黑龙江大学出版社
地 址	哈尔滨市南岗区学府路 74 号 邮编 150080
电 话	0451 - 86608666
经 销	新华书店
印 刷	黑龙江省教育厅印刷厂
版 次	2009 年 12 月 第 1 版
印 次	2009 年 12 月 第 1 次印刷
开 本	880mm × 1230mm 1/32
印 张	5.5
字 数	124 千
书 号	ISBN 978 - 7 - 81129 - 229 - 9

定 价 18.00 元

凡购买黑龙江大学出版社图书, 如有质量问题请与本社发行部联系调换
欢迎访问黑龙江大学出版社网站: www.hljupress.com

版权所有 侵权必究

前 言

随着农业产业结构的调整,蔬菜设施栽培的面积不断增长,蔬菜生产呈现规模化、专业化和工厂化。这种蔬菜生产模式,常伴随着高度的集约化种植,造成设施蔬菜复种指数高,存在蔬菜种植品种相对单一,过分密植等弊端,这些均造成了蔬菜连作障碍问题,并且已经成为制约中国保护地蔬菜可持续发展的瓶颈。其中土传病害的蔓延是设施蔬菜连作障碍的主要原因之一。

茄果类蔬菜是设施蔬菜栽培中的主要蔬菜种类,近年来由大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae*)引起的茄子黄萎病逐年加重,已成为限制茄子设施栽培生产的主要因子。已有抗病品种在设施栽培条件下,效果不明显;生态防治方法防效甚微;使用化学农药虽有一定防效,但化学农药污染环境,降低农产品质量,危害人类健康,不符合环境可持续发展的要求。利用野生茄子作砧木进行嫁接是一项有效的防病技术措施,对茄子黄萎病的防治效果可达 95% 以上,同时砧木野生茄的抗病性也得到了验证。常用的嫁接茄砧木有野生茄托鲁巴姆、刺茄(CRP)、赤茄、刚果茄等。这些砧木多具有发达的根系,吸收水分、养分能力强,植株生长势强,抗逆能力强,对茄子黄萎病具有高抗或免疫能力。目前关于这些野生茄的抗病性利用,仅局限于作为嫁接砧木方面。但嫁接技术耗费人力财力,且对技术、环境、植株都有严格的要求,在一定程度上限制了其应用。如何有效地防

治黄萎病已成为茄子生产上迫切需要解决的关键性技术问题。

植物化感作用在作物中广泛存在,随着化学特别是有机化学和植物生理生化、微生物学、生态学、土壤学、农学等学科的相互渗透,植物的化感作用研究在减少连作障碍危害、合理安排农作物耕作制度、开发环保型农药和作物生长调节剂等方面起着重要的作用。化感作用的研究越来越多地被人们所重视,作为多学科交叉科学日臻成熟。利用化感作用原理,通过向土壤中施入以植物残体为主的添加物或提取物,可在一定程度上控制土传病害的发生。

野生茄及嫁接茄根系分泌物具有抑制茄子黄萎病菌菌丝生长和孢子萌发的化感作用。植物的化感物质释放途径除根系分泌外,还有淋溶、挥发、植株分解(降解)等。野生茄植株是否通过淋溶等途径释放化感物质影响茄子黄萎病菌的生长,是一个有待研究的课题。因此,本书探索性地研究了野生茄浸提物和腐解物对茄子黄萎病菌的化感作用及利用,系统探讨了野生茄的根际土壤化感潜力,为充分利用野生茄抗黄萎病等土传病害,克服连作障碍,开发野生抗病茄资源新的利用途径,提供了新的思路和方法;同时对嫁接茄抗病的机理进行补充,为更好地指导茄子生产实践,实现保护地蔬菜生产的可持续发展和良性循环提供科学依据。

本书是在我的博士论文的基础上加工整理而成。由于本人水平有限,书中难免有不妥之处,敬请读者批评指正。本书的出版,得益于黑龙江大学博士论文出版基金的资助,在此表示由衷的谢意。

李云鹏

2009年12月

目 录

1	绪论	1
1.1	化感作用的研究概况	3
1.2	植物和微生物之间的化感作用	18
1.3	化感作用原理在作物病害防治方面的应用	27
1.4	蔬菜作物嫁接抗病与土壤生物学特性的关系	32
2	野生茄浸提物和腐解物对茄子黄萎病菌的化感作用	37
2.1	浸提物和腐解物的制备	38
2.2	提取液的抑菌活性	39
2.3	盆栽防病试验	45
3	野生茄浸提物和腐解物的抑菌物质研究	50
3.1	抑菌活性物质提取条件的初步研究	50
3.2	抑菌活性物质理化性质及活性组分的初步研究	58
4	野生茄浸提物和腐解物对茄子植株抗病的调控	79
4.1	样品的采集	81
4.2	浸提物和腐解物对茄子植株生长发育状况的影响	82
4.3	浸提物和腐解物对茄子植株生理指标的影响	86

5 野生茄根际土壤的化感潜力研究	103
5.1 野生茄植株抗黄萎病效果	105
5.2 野生茄根际土壤浸提液对黄萎病菌的 化感作用	106
5.3 野生茄根际土壤生物学活性的变化	110
5.4 野生茄根际土壤黄萎病拮抗菌的研究	119
5.5 浸提物和腐解物对茄子根际土壤生物学 活性的影响	125
参考文献	135
附录	156
附录 I 试验用培养基	156
附录 II 部分试验照片	158
后记	167

1 绪 论

茄子是我国人民喜食的主要蔬菜之一,其栽培适应性强、采收期长、产量高、营养丰富,在蔬菜生产中占有重要的位置。然而,随着种植面积的不不断扩大,特别是随着蔬菜生产专业化和设施栽培的发展,由土传病害等因素引起的连作障碍日益严重,尤其是黄萎病已成为限制茄子生产的主要因素^[1]。

黄萎病(verticillium wilt),又称凋萎病,是妨害许多作物的重要病害^[2],是对茄子最具有破坏性的病害之一^[3],在世界各地普遍发生,在国内分布广泛。日本曾发生茄子黄萎病大流行,并造成严重损失^[4];美国也曾报道,该病使感病品种 Florida Market 减产 62%~85%,使耐病品种 R4 减产 34.1%~42.5%^[5]。自 1935 年因引进美国棉种而使黄萎病传入我国后,1954 年以前茄子黄萎病仅在东北地区局部发生,近年来该病发生范围不断扩大。目前东北、华北、西北、华东等地区都有发生,给茄子等作物的生产造成了严重损失。长时间以来各国学者从抗病育种、环境调控、植保防治的角度开展了茄子对黄萎病的抗病机理与防治措施的研究。虽然已经培育出一些优良的抗病品种,但是在保护地这样的环境中,效果不十分明显。茄子黄萎病病原菌的寄主范围广,越冬场所多,在土壤中存活时间长(6~7 年),拟菌核可

存活 14 年^[6]。采用传统的综合防治措施难以达到理想的效果,且耗费人力,需要增加投资,还会对环境造成污染^[7]。轮作倒茬可有效地防治土传病害,但在很多情况下,尤其是在设施栽培条件下,又不得不连作,所以必须采取其他措施进行防治。

近年来发展起来的嫁接技术是防治黄萎病等土传病害、克服连作障碍行之有效的措施。自 20 世纪 80 年代以来,日本、韩国等国家开始研究、开发茄子嫁接技术。采用抗病的野生茄子作为砧木,与栽培品种进行嫁接。进入 90 年代后,我国也开始在生产上逐渐应用嫁接技术,由于茄子嫁接的防病效果可以达到 95% 以上,增产效果达 30% 以上,还具有无公害的特点,所以得到了蔬菜生产者的欢迎。目前,常用的砧木有野生茄托鲁巴姆、刺茄(CRP)、赤茄、刚果茄、野生水茄、野茄 2 号等。也有研究用茄科异属植物嫁接抗病的,如王茹华等^[8]报道的以番茄为砧木嫁接茄子也具有较好的抗病效果。同时,农业科研工作者对嫁接技术的应用基础和机理也进行了一系列的研究。

化感现象是生态系统中一个重要现象,已引起各国科学家的高度重视,并成为生态学领域的研究热点。利用化感作用原理,通过向土壤中施入以植物残体为主的添加物或提取物,可在一定程度上控制土传病害的发生^[4,9]。

嫁接茄子可抗病增产的一个重要原因,是根系分泌物中的化学物质对茄子黄萎病菌能产生较强的化感抑制作用,改变根际微生物的组成^[10-11]。可见,作为嫁接砧木的野生茄具有一定的化感抑菌潜力。目前,还没有关于有效地利用嫁接砧木——野生茄的化感抑菌作用来防治茄子黄萎病等土传病害,充分发挥野生茄资源的抗菌作用的报道。因此,本书中以嫁接茄子抗

病增产的研究为基础,以植物化感理论为依据,运用病害防治的研究手段和方法,研究了野生茄子根、茎、叶浸提物和腐解物对黄萎病菌的抑制作用(化感作用)、田间控病效果和控病机制、抑菌物质的理化性质,并通过研究野生茄根际土壤浸提液对黄萎病菌的化感作用、野生茄根际土壤生物学活性、野生茄浸提物和腐解物对茄子根际土壤生物学特性的影响,初步探讨了野生茄子根际土壤的化感作用潜力。

本书旨在探明野生茄子抗黄萎病的化感机制,为充分利用野生茄子资源抵抗黄萎病等土传病害、克服连作障碍提供新的思路和方法。

1.1 化感作用的研究概况

在自然界中,植物、动物、昆虫、微生物等生物,除了单独生长外,亦互相影响,组合形成生态系统。这种相互作用,除了对环境资源,即生活原料如光、水、养分等发生激烈争夺外,还悄悄地进行着巧妙的“化学战争”,即化感作用(Allelopathy)。化感作用是一种重要的生态机制。对植物化感作用的研究兴起于20世纪70年代初期,经过30年的发展,已形成了独立的学科体系。近年来,植物化感作用研究再次成为国内外在植物保护学、生态学、植物学、农学和林学等相关领域研究的热点问题。中国的植物化感作用研究起步虽晚,但自90年代中期以来发展迅速。近年在国际上发表论文的数量和质量逐年上升,从事植物化感作用研究的队伍也愈来愈大,呈现出可喜的发展态势。

1.1.1 化感作用的概念

化感作用的概念是 Molish^[12] 在 1937 年首先提出的。化感作用即所有类型的植物(含微生物)之间所含有的生化物质可以相互作用,这种相互作用包括有害和有益两个方面。20 世纪 70 年代中期,Rice 将植物化感作用定义为:植物(含微生物)通过把化学物质释放到环境中而对其他植物产生直接或间接的有害作用^[13]。80 年代中期,Rice 将有益的作用和自毒作用补充到植物化感作用的定义中^[14]。对化感作用的研究是一个跨学科领域,在这一领域中,生态学家、生理学家和化学家共同进行着研究。

1.1.2 化感物质

化感作用的媒体是化学物质,被称为“化感物质”,即植物本身产生的可以影响其他生物生长、行为和种群生存的化学物质。在植物界,几乎所有植物中都或多或少地含有具化感作用的物质。化感作用的主客体关系可以表示为如图 1-1 所示的关系。其中,在化感物质的称谓中,只有 Antibiotic 被普遍接受

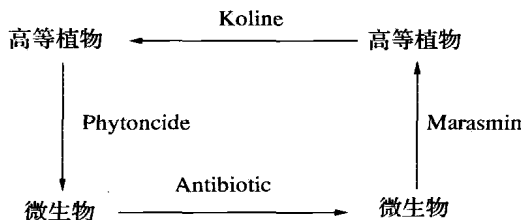


图 1-1 化感作用的主客体关系及化感物质的称谓

和使用,而其他的称谓均可用 Allelochemical 来表达^[15]。现已发现,许多化感物质对植物、微生物、动物和昆虫都有作用。

1.1.2.1 化感物质的种类

目前已被鉴定的化感物质大多数是莽草酸和乙酸途径的产物,属于次生代谢物质,其中也有一部分是微生物进一步分解的产物^[13]。Rice^[14]把各种化感物质归纳为 14 类:

- ①简单的水溶性有机酸、直链醇、脂肪醇、脂肪醛和酮;
- ②简单不饱和内脂;
- ③长链脂肪酸和聚乙炔;
- ④苯醌、蒽醌和复醌等醌类;
- ⑤简单酚、苯甲酸及其衍生物;
- ⑥肉桂酸及其衍生物;
- ⑦香豆素类;
- ⑧黄酮类;
- ⑨丹宁;
- ⑩类萜和甾族化合物;
- ⑪氨基酸和多肽;
- ⑫生物碱和氰醇;
- ⑬糖苷硫氰酸酯和芥子油苷;
- ⑭嘌呤和核苷。

其中,最为常见的是酚类和类萜类化合物^[15-17]。结构简单、相对分子质量小是已发现的化感物质的特点。随着对化感作用研究的不断深入和对化感物质进行分离、鉴定的技术的不断提高,越来越多的化感物质被发现,其中也包括一些相对分子

质量大的复合结构的物质,如一些倍半烯内酯^[18]、树脂糖苷^[19]和寡聚苯乙烯^[20-21]等。这些化感物质有促进型的,也有抑制型的。

1.1.2.2 化感物质的释放途径

化感物质存在于植物的各部分组织中,包括根、茎、叶、花、果、种子等器官。化感物质的释放是供体对邻近个体(包括同种个体)的信息传递,并通过化感物质的抑制或促进作用影响周围生境中植物或微生物的分布。已被广泛接受和证实的植物向环境释放化感物质的途径有淋溶、挥发、根系分泌和残株分解这四种。此外,还有种子萌发和花粉传播及微生物分泌等化感物质释放途径。当然,不同植物或同一植物在不同环境下所表现出的释放途径可能有所不同。

(1) 淋溶

植物地上部受雨、露、雾等的淋洗,化感物质被带到土壤或直接淋洗到其他植物上。例如,桉树(*Eucalyptus citrindor*)叶片中被水洗下来的酚类化感物质,对亚麻(*Linum spp.*)的生长具有明显的抑制作用^[22]。植物组织的死亡和损伤可以加速化感物质的淋溶^[14]。吴俊民等^[23]发现,在水曲柳(*Larix olgensis*)—落叶松(*Fraxinus mandshurica*)混交林中,落叶松枯枝落叶的淋溶物可以促进水曲柳的生长。可见,植物残株淋溶也是化感物质释放的主要途径。依据此原理可以通过浸提的方法从植株叶片等部位提取化感物质。

(2) 挥发

许多植物可以向环境释放挥发性物质,尤其是生长在干旱

和半干旱地区的植物。例如,茶树叶片中积累了大量的以单萜烯醇和芳香族醇为主的挥发性化感物质的糖苷,在特定条件下(采摘、组织损伤、昆虫侵食、病菌侵染)被内源酶水解,释放出挥发性的苷元^[24];柠檬桉(*Eucalyptus citriodor*)树叶能释放出挥发性的蒽烯等化感物质,从而强烈地抑制萝卜(*Raphanu sativus*)种子发芽^[25]。一些芳香性的灌木,释放挥发性化感物质是其显示化感作用的主要途径。与雨雾淋溶类似,植物残株同样可以释放挥发性的化感物质。Popov 对 24 年生油松(*Pinus tabulaeformis*)、白桦(*Betula platyphlla*)混交林的研究表明,白桦叶片的水浸液和挥发性物质在高浓度下能抑制松树种子的发芽势及幼苗的生长,其中主要起作用的是萜类化合物^[26]。

(3) 根系分泌和残根分解

根系分泌是一切根际过程的内在驱动力。根系分泌物是指植物在生长过程中通过根的不同部位向生长基质(土壤、营养液等)释放的一组物质^[27]。根系分泌物具有各种各样的功能,但至少部分根系分泌物或其进一步分解物是显示化感作用的。现已发现,根系是化感物质进入环境的重要通道^[28]。越来越多的试验证明,根系分泌物中含有大量的化感物质。常见的农作物水稻、小麦、燕麦、玉米、黄瓜、番茄、西瓜、茄子等的根系分泌物中均含有化感抑制物质^[28-29]。植物根部除了能直接分泌化感物质外,还可以通过植物残根在土壤中分解而释放化感物质。死亡和损坏的植物根系组织能被土壤中的水分淋溶或经土壤微生物及其他物理化学因子的作用而产生和释放化感物质到土壤环境中。例如,Hatsuda 等^[30]从西瓜残根中分离出的化感物质 α -羟基苯甲酸,不仅可以抑制西瓜的生长,而且还能诱发类似

镰刀菌引发的维管束褐变。

(4) 植株的降(分)解

前面已经提到,植物残株也可以通过淋溶和挥发作用释放化感物质,但其释放化感物质的最主要的途径是在土壤环境的物理化学和生物学因子作用下分解或降解成化感物质。通常可以认为残株降(分)解的途径有以下几类:

①直接从植物残株释放出活性化感物质;

②从残株释放出的非活性化感物质经微生物作用转化成活性化感物质;

③植物残株释放的物质与土壤中原有的化学物质相互作用而产生活性化感物质。

土壤微生物是植物残株降(分)解而发挥化感作用的主要因素。小麦秸秆中含有香豆酸、对羟基苯甲酸、丁香酸、香草酸、阿魏酸等化感物质,这些物质多数属于自毒物质。Guenzi 等^[31]的研究表明,小麦的自毒作用在秸秆还田中表现十分明显,秸秆还田是为了改善土壤条件,然而这种措施往往会导致小麦本身发芽和生长受阻,使产量下降。Young 和 Kimber 等^[32]进一步研究发现,小麦秸秆和种植过小麦的土壤的浸提液可以明显地抑制小麦的发芽和幼苗生长。在蕨(*Pteridium aquilinum*)类植物聚集生长的环境中其他草本植物很难存活,这主要是因为蕨类植物枯死的枝叶释放出来酚类物质(主要成分是阿魏酸和咖啡酸)会对其他草本植物产生化感作用^[33]。辣椒秸秆腐解物中的化感物质也会使辣椒植株的生长减缓^[34]。Chou 和 Lin^[35]的研究发现,腐解的水稻秸秆的水提物可延缓水稻胚根和植株的生长,而且在腐解的第一个月内这种抑制作用最强,而

后降低。目前已从水稻秸秆腐解产物中分离到了香豆素、对羟基苯甲酸、丁香酸、香草酸、杏仁酸、阿魏酸、乙酸、丙酸和丁酸^[36]。

1.1.2.3 化感物质在环境中的迁移转化及影响因素

在陆生生态系统中,植物向环境中释放的化感物质,少部分能够通过挥发、淋溶与枝叶和根部直接接触而传递,大部分化感物质则是以土壤为媒介传递的。化感物质和环境因子的相互作用很复杂,但就研究而言,化感物质一旦进入环境,其与环境的相互作用过程即可分为滞留、转化和迁移三个基本过程。这三个过程的发生不仅取决于化感物质本身的理化性质,环境和媒介中的许多因子也都能对其产生显著的影响。滞留可以阻止化感物质通过介质从一处移动到另一处;转化过程会改变化感物质的结构或性质,可能会导致化感物质的分子变性或者全部降解;迁移运动过程取决于化感物质与土壤媒介的相互作用和各个过程相互竞争的结果。只有那些经过滞留和转化等过程,并以一定的浓度和活性结构真正迁移运动到达受体植物的化感物质才能显示出化感作用。

植物产生的化感物质的种类和数量取决于植物自身和环境因素的共同作用。植物自身的影响因素主要有种类、品种、生育期、器官等;而环境的影响因素包括光照、温度、营养、水分等非生物因子和植物竞争、植物病害、昆虫及动物侵袭等生物因子。一般来说,在逆境胁迫下,具有化感作用的植物分泌的化感物质数量增加、活性增强。同时,在逆境条件下,受体植物自身生长发育受到抑制,对化感物质的敏感性增加;而在生长发育良好

时,受体植物对化感物质的耐受性较强或化感物质的作用强度被削弱。Cheng^[37]对化感物质在土壤中的迁移运动过程及影响因素给予了扼要的总结(见图1-2)。

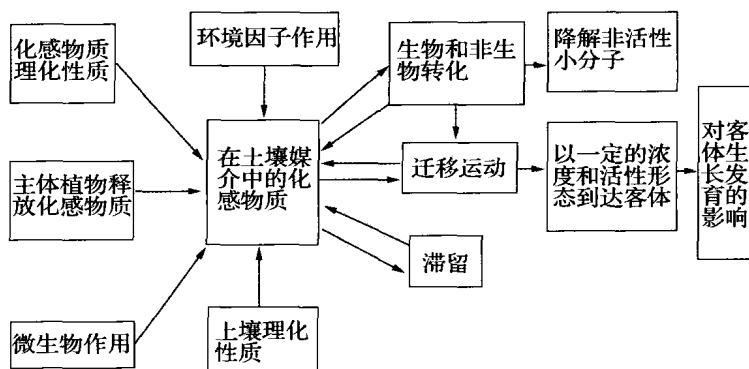


图1-2 化感物质在土壤媒介中的滞留、转化、迁移及影响因素

1.1.2.4 化感物质的作用特点

(1) 作用谱

化感物质的作用具有一定的作用谱(即选择性和专一性)。黑胡桃产生的胡桃酮可抑制苹果树的生长,但却不能抑制梨、桃、李树的生长;可以抑制几种常见的草类,但却不能抑制六月禾的生长;可抑制一种黑莓的生长,但不能抑制与黑莓同属的另一种草莓的生长^[38]。黄瓜和西瓜的根系分泌物可对自身产生自毒作用,但对黑子南瓜的生长则可产生促进作用^[39]。银胶菊的根系分泌物在低浓度时即可抑制自身幼苗的生长,但即使浓度提高100倍,也不能抑制番茄的生长^[40]。

(2) 浓度效应

化感物质对受体植物的作用强度与其浓度密切相关。同一