

# 不同抗性辣椒品种根系分泌物对疫霉菌的影响

王继元<sup>1</sup> 吕雅悠<sup>1</sup> 于迪<sup>2</sup> 张维娜<sup>1</sup> 朴凤植<sup>2</sup> 申顺善<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>河南农业大学植物保护学院, 河南郑州 450002; <sup>2</sup>河南农业大学园艺学院, 河南郑州 450002)

**摘要:** 为分析辣椒根系分泌物与抗病性的相关性, 测定了 4 个不同抗性辣椒品种的根系分泌物对辣椒疫霉菌的影响。结果表明: 对辣椒疫病表现抗病的 PRMND 和 DNP56 的根系分泌物对疫霉菌的菌丝生长、游动孢子囊形成、游动孢子释放和休止孢子萌发均有显著的抑制作用, 而对辣椒疫病表现高度感病的科星 6 号和新机遇的根系分泌物对疫霉菌的菌丝生长没有明显影响, 科星 6 号根系分泌物对游动孢子囊的形成没有明显的影响, 而新机遇根系分泌物对游动孢子囊形成有明显抑制作用, 科星 6 号和新机遇的根系分泌物对游动孢子释放和处理 8 h 后对休止孢子萌发具有明显的抑制作用, 但其抑制效果显著低于抗病品种。

**关键词:** 根系分泌物; 辣椒疫霉菌; 抗病性

辣椒是我国种植面积较大的重要蔬菜和调味品种类之一, 各地均有广泛栽培。辣椒疫病是由辣椒疫霉菌 (*Phytophthora capsici* L.) 引起的辣椒生产中为害最严重的土传病害之一, 在辣椒生产区均有发生(易图永等, 2002; 兰成忠等, 2011)。多年来, 国内外许多专家学者都在寻找安全、高效、持久治理辣椒疫病的有效途径, 在抗性品种的筛选、嫁接、轮作、土壤消毒和根际自生细菌的应用等方面做了大量的研究。选用抗病品种是防治辣椒疫病最为经济有效的途径(杨雨丽和王淑燕, 2002; 杜晓华等, 2005), 但目前在辣椒生产上尚无理想的抗病品种, 辣椒疫病的防治主要依赖于化学农药, 但长期使用化学农药, 病菌易产生抗药性, 且污染环境, 破坏生态系统, 影响人体健康。为了保障辣椒种植业的持续、稳定、健康发展, 抗性资源的筛选、引进及抗病品种的选育是亟待解决的问题。

植物根系分泌物是指植物分泌到周围土壤中的

有机物的总称, 作为寄主自身抗病的第一阶段, 与植物抗性有密切关系(韩雪等, 2006)。关于辣椒抗病病机制国内外都有一些研究报道, 冯东昕和李宝栋(1999)综述了国内外对辣椒疫病的抗病机制研究进展, 认为辣椒对疫病的抗病机制是非常复杂的, 既包括寄主的组织结构抗性, 也包括生理生化机制如可溶性蛋白、酯酶、过氧化物酶等。考虑到辣椒疫病病菌是从根部侵入, 根系分泌物的生态作用就显得尤为重要, 而且不少学者已在其他病害研究中发现根系分泌物与植物抗病性有密切关系(黄奔立等, 2007a, 2007b; 张俊英等, 2008; 王雪等, 2008)。

本试验依据辣椒品种抗病性评价研究结果(张维娜等, 2013), 选用辣椒疫病抗病品种 PRMND、DNP56 和感病品种科星 6 号、新机遇, 测定其根系分泌物对辣椒疫霉菌的影响, 初步分析辣椒根系分泌物与品种抗病病之间的关系, 为辣椒疫病抗病品种的抗性机理分析打下基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 供试辣椒品种 供试辣椒品种为科星 6 号(郑州市科星蔬菜研究所, 高感疫病)、新机遇(河南省豫园科技发展有限公司, 高感疫病)、PRMND

王继元, 女, 硕士研究生, 专业方向: 蔬菜病害防治, E-mail: jywang2007@163.com

\* 通讯作者 (Corresponding author): 申顺善, 女, 教授, 专业方向: 植物病害防治, E-mail: shen0426@163.com

收稿日期: 2013-11-11; 接受日期: 2013-11-30

基金项目: 河南省重点科技攻关资助项目 (122102110042)

(韩国农宇种苗, 抗疫病) 和 DNP56 (韩国大农种苗, 抗疫病)。

1.1.2 供试病原菌 辣椒疫霉菌由河南农业大学植物病害生物防治研究室分离、鉴定并保存。

1.1.3 供试培养基 供试培养基为 CMA 培养基(玉米粉 200 g, 琼脂粉 15 g, 蒸馏水 1 000 mL) 和 V8A 培养基 (V8 果蔬汁 100 mL, 碳酸钙 1 g, 琼脂粉 15 g, 蒸馏水 900 mL)。

## 1.2 方法

1.2.1 根系分泌物的收集 将辣椒种子催芽露白后, 播种于高温灭过菌的蛭石中, 培育 30 d 后, 将辣椒苗从蛭石中小心取出, 尽量不要伤到根系, 先用自来水冲洗 3 次, 再用去离子水冲洗 3 次, 将每个辣椒品种植株分别放入盛有 100 mL 去离子水的烧杯中光照培养, 每 24 h 更换收集 1 次去离子水, 连续收集 3 次。收集到的根系分泌物用过滤器(滤膜孔径: 0.45  $\mu\text{m}$ ) 过滤, 然后用旋转蒸发器 (40  $^{\circ}\text{C}$ ) 浓缩 10 倍, 冷藏备用 (高欣欣等, 2012)。

1.2.2 根系分泌物对辣椒疫霉菌菌丝生长的影响

采用平板培养法。将根系分泌物加入已灭菌并冷却至 50  $^{\circ}\text{C}$  左右的 CMA 培养基里, 摇匀后倒入培养皿 (直径为 90 mm) 制成 10% 根系分泌物-CMA 培养基平板, 每品种 3 次重复, 以在 CMA 培养基中加入无菌水作对照。在平板中央接种辣椒疫霉菌菌块, 置于 28  $^{\circ}\text{C}$  恒温箱培养, 每隔 24 h 测定菌落生长直径。

1.2.3 根系分泌物对辣椒疫霉菌游动孢子囊形成的影响 用打孔器 (直径为 8 mm) 切取 V8A 培养基上长满辣椒疫霉菌的菌饼, 移置于无菌空培养皿 (直径 60 mm) 中, 倒入辣椒根系分泌物, 以刚好浸湿菌饼表面菌丝为准, 然后置于 25  $^{\circ}\text{C}$  恒温箱中光照培养 16 h, 在显微镜下检测菌饼上的游动孢子囊的数量 (Shen et al., 2002), 以无菌水处理作对照。

1.2.4 根系分泌物对辣椒疫霉菌游动孢子释放的影响

将无菌水中产生游动孢子囊的菌饼置于盛有辣椒根系分泌物的培养皿中, 在 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱放置 30 min, 然后在室温条件下放置 30 min, 诱发其释放游动孢子。在显微镜下检测游动孢子囊总数和游动孢子释放后残留的空壳孢子囊数, 计算游动孢子释放率 (Shen et al., 2002), 以无菌水处理作对照。

1.2.5 根系分泌物对辣椒疫霉菌休止孢子萌发的影响 在无菌水中诱发游动孢子释放后, 用双层纱布过滤去除菌丝段获得休止孢子悬浮液, 取等量的休止孢子悬浮液和辣椒根系分泌物均匀混合, 取 30  $\mu\text{L}$  混合液滴到凹玻片上, 置于 25  $^{\circ}\text{C}$  恒温箱中保湿培养, 每隔 2 h 在显微镜下检测休止孢子萌发数, 计算休止孢子萌发率 (Shen et al., 2002), 以无菌水作对照。

## 2 结果与分析

### 2.1 辣椒根系分泌物对辣椒疫霉菌菌丝生长的影响

不同抗性辣椒品种的根系分泌物对辣椒疫霉菌菌丝的生长有不同程度的影响 (表 1)。抗疫病品种 PRMND 和 DNP56 的根系分泌物显著抑制辣椒疫霉菌菌丝生长, 而高感疫病品种新机遇和科星 6 号的根系分泌物对辣椒疫霉菌菌丝生长没有显著影响。接种 120 h 后对照的辣椒疫霉菌长满平板, 其菌落直径为 90 mm, 接种 48 h 后 PRMND 和 DNP56 根系分泌物的平板菌落基本不再生长, 到 120 h 时菌落直径仍为 20.7 mm 和 34.3 mm, 对菌丝生长的抑制率达到 77.00% 和 61.89%。

### 2.2 辣椒根系分泌物对辣椒疫霉菌游动孢子囊形成的影响

不同抗性辣椒品种根系分泌物对辣椒疫霉菌游动孢子囊的形成均有不同程度的影响。在 25  $^{\circ}\text{C}$  恒温箱中光照培养 16 h 后, 对照每个视野 (10  $\times$  10 倍镜) 有疫霉菌游动孢子囊 85.44 个, 而 PRMND 和 DNP56 根系分泌物处理每个视野 (10  $\times$  10 倍镜)

表 1 辣椒根系分泌物对辣椒疫霉菌菌丝生长的影响

处理	菌落直径/mm				
	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
PRMND	18.7 $\pm$ 1.90 b	20.2 $\pm$ 1.90 c	20.7 $\pm$ 1.90 c	20.7 $\pm$ 1.90 d	20.7 $\pm$ 2.02 c
DNP56	20.7 $\pm$ 1.00 a	33.3 $\pm$ 4.50 b	33.8 $\pm$ 4.50 b	34.3 $\pm$ 4.50 c	34.3 $\pm$ 4.86 b
科星 6 号	20.8 $\pm$ 0.80 a	39.5 $\pm$ 0.80 a	58.8 $\pm$ 1.00 a	71.2 $\pm$ 1.00 ab	90.0 $\pm$ 0 a
新机遇	20.7 $\pm$ 1.40 a	39.8 $\pm$ 1.50 a	59.7 $\pm$ 1.50 a	73.7 $\pm$ 2.30 a	90.0 $\pm$ 0 a
无菌水 (CK)	20.8 $\pm$ 0.80 a	39.5 $\pm$ 0.80 a	58.0 $\pm$ 0.90 a	70.5 $\pm$ 0.80 b	90.0 $\pm$ 0 a

注: 表中同列数据后不同小写字母表示差异显著 ( $\alpha=0.05$ ), 下表同。

有 25.34 个和 32.92 个, 对游动孢子囊形成的抑制率达到 70.34% 和 61.47%, 新机遇根系分泌物处理每个视野 ( $10 \times 10$  倍镜) 有 68.83 个, 也显著抑制了辣椒疫霉菌游动孢子囊形成, 而科星 6 号根系分泌物处理每个视野 ( $10 \times 10$  倍镜) 有 84.91 个, 与对照没有显著差异 (表 2)。

表 2 辣椒根系分泌物对辣椒疫霉菌游动孢子囊形成的影响

处理	游动孢子囊数	抑制率/%
PRMND	25.34 ± 2.65 c	70.34
DNP56	32.92 ± 2.20 c	61.47
科星 6 号	84.91 ± 2.35 a	0.62
新机遇	68.83 ± 4.80 b	19.44
无菌水 (CK)	85.44 ± 3.20 a	—

### 2.3 辣椒根系分泌物对辣椒疫霉菌游动孢子释放的影响

不同抗性辣椒品种根系分泌物均不同程度地抑制辣椒疫霉菌游动孢子释放。在皿内诱发游动孢子囊释放游动孢子处理 30 min 后, 对照的游动孢子释放率为 63.77%, 而 PRMND 和 DNP56 根系分泌物处理为 21.20% 和 27.26%, 其抑制率分别达到 66.75% 和 57.25%, 新机遇和科星 6 号根系分泌物处理的游动孢子释放率分别为 34.85% 和 40.69%, 也不同程度地抑制了游动孢子的释放, 其抑制率分别为 45.35% 和 36.19% (表 3)。

表 3 辣椒根系分泌物对辣椒疫霉菌游动孢子释放的影响

处理	游动孢子释放率/%	抑制率/%
PRMND	21.20 ± 0.04 c	66.75
DNP56	27.26 ± 0.08 c	57.25
科星 6 号	40.69 ± 0.05 b	36.19
新机遇	34.85 ± 0.04 b	45.35
无菌水 (CK)	63.77 ± 0.07 a	—

### 2.4 辣椒根系分泌物对辣椒疫霉菌休止孢子萌发的影响

辣椒根系分泌物不同程度地影响着辣椒疫霉菌休止孢子的萌发。在对照培养 2 h 后休止孢子萌发率达 59.98%, 培养 8 h 后萌发率达到了 98.80%; 而 PRMND 和 DNP56 根系分泌物处理的休止孢子培养 2 h 后萌发率分别为 18.87% 和 21.47%, 培养 8 h 后萌发率分别为 65.27% 和 61.34%, 抑制效果显著; 新机遇和科星 6 号根系分泌物处理 8 h 后对辣椒疫霉菌的休止孢子萌发也有一定程度的抑制效果 (图 1)。

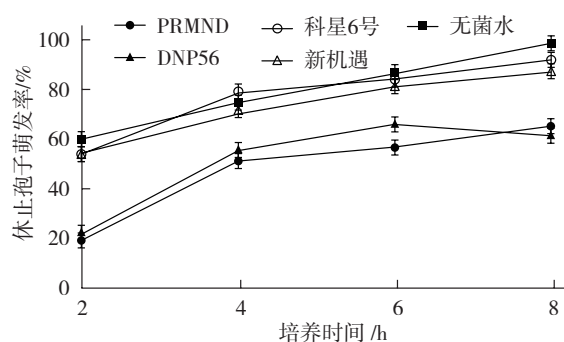


图 1 辣椒根系分泌物对辣椒疫霉菌休止孢子萌发的影响

## 3 结论与讨论

辣椒疫病是典型的土传病害, 病原菌以菌丝体、卵孢子或厚垣孢子在病株残体和土壤中越冬, 第 2 年条件适宜时萌发并侵入寄主。病株上的病原体产生孢子囊, 借助雨水和灌溉水传播, 进行再侵染。孢子囊可直接萌发侵染, 也可释放游动孢子侵入寄主, 致使病害流行。游动孢子囊及游动孢子是辣椒疫霉菌在田间迅速传播的主要形式 (郑小波, 1997), 因此辣椒疫病在田间的扩散蔓延与疫霉菌的菌丝生长、游动孢子囊和游动孢子形成关系密切。选用抗病品种是防治辣椒疫病最经济有效的措施, 而我国辣椒抗病育种工作起步较晚, 筛选出来的抗病品种比较少, 应用于生产的品种还很少。近年来, 对辣椒抗病品种的选育愈加重视, 对品种抗性机理的研究报道也不断增加 (朱英波等, 2002; 李海燕等, 2006; 李久峰, 2008)。

植物根系分泌物对土壤理化性质、土壤微生物、植物营养影响较大, 显著影响着植物根际土壤微生态环境。不同作物、同种作物的不同品种、同一品种的不同生育期根系分泌物的成分和含量各不相同, 在一些病害研究中已报道植物根系分泌物与植物抗病性有密切关系。郑倩等 (2012) 研究结果证明, 棉花抗病品种根系分泌物对黄萎病菌的孢子萌发和菌丝生长有一定的抑制作用, 而感病品种根系分泌物则刺激病菌生长, 本试验结果表明, 对辣椒疫病表现抗病的品种 PRMND 和 DNP56 的根系分泌物对疫霉菌的菌丝生长、游动孢子囊形成、游动孢子释放和休止孢子萌发均有显著的抑制作用, 而对辣椒疫病表现高度感病的科星 6 号和新机遇的根系分泌物对疫霉菌的菌丝生长没有明显影响, 科星 6 号根系分泌物对游动孢子囊的形成没有

明显的影响,而新机遇根系分泌物对游动孢子囊形成有明显抑制作用,科星6号和新机遇的根系分泌物对游动孢子释放和处理8h后对休止孢子萌发具有明显的抑制作用,但其抑制效果显著低于抗病品种。黄奔立等(2007a)的研究结果表明,不同抗性品种的根系分泌物影响黄瓜抗病性,根据本试验结果可以证明辣椒不同抗性品种根系分泌物显著影响着辣椒对疫病的抗性,其根系分泌物活性与抗病性程度有密切关系,而具体根系分泌物的何种成分在辣椒抗疫病过程中起了重要作用,还有待于进一步的研究。

#### 参考文献

- 杜晓华, 巩振辉, 李大伟. 2005. 辣椒抗疫病的遗传与育种. 西北农业学报, 14(1): 30-36.
- 冯东昕, 李宝栋. 1999. 辣椒疫病病原菌及抗病育种研究进展. 中国蔬菜, (2): 48-52.
- 高欣欣, 张继光, 刘帅帅, 于会泳, 高林, 申国明. 2012. 烤烟根系分泌物对幼苗生长和种子萌发的影响. 农学学报, 2(12): 42-45.
- 韩雪, 吴凤芝, 潘凯. 2006. 根系分泌物与土传病害关系之研究综述. 中国农学通报, 22(3): 316-318.
- 黄奔立, 许云东, 张顺琦, 陈学好. 2007a. 根系分泌物影响黄瓜枯萎病抗性的机理研究. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 28(3): 77-81.
- 黄奔立, 许云东, 伍焯, 张顺琦, 陈学好. 2007b. 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. 应用生态学报, 18(3): 559-563.
- 兰成忠, 李本金, 陈庆河, 翁启勇. 2011. 辣椒疫病的发生与综合防治. 现代农业科技, (24): 190-191.
- 李海燕, 刘惕若, 甄艳. 2006. 辣椒品种对疫病的抗性研究——氨酸、丙二醛与可溶性糖在抗病中的作用. 中国农学通报, 22(11): 315-317.
- 李久峰. 2008. 辣椒应答疫霉侵染的生理生化基础研究〔硕士论文〕. 福州: 福建农林大学.
- 王雪, 段玉玺, 陈立杰, 王媛媛. 2008. 大豆根系分泌物中氨基酸组分与抗大豆胞囊线虫的相关性研究. 沈阳农业大学学报, 39(6): 677-681.
- 杨君丽, 王淑燕. 2002. 辣椒不同品种苗期对疫霉菌抗性比较. 北方园艺, (6): 66.
- 易图永, 谢丙炎, 张宝玺, 高必达. 2002. 辣椒疫病防治研究进展. 中国蔬菜, (5): 52-55.
- 张俊英, 王敬国, 许永利. 2008. 大豆根系分泌物中氨基酸对根腐病菌生长的影响. 植物营养与肥料学报, 14(2): 308-315.
- 张维娜, 郑新光, 王伟丽, 申顺善, 朴凤植. 2013. 辣椒品种抗疫病评价及不同砧木嫁接效果. 北方园艺, (16): 1-5.
- 郑倩, 李俊华, 危常州, 褚贵新. 2012. 不同抗性棉花品种根系分泌物及酚酸类物质对黄萎病菌的影响. 棉花学报, 24(4): 363-369.
- 郑小波. 1997. 疫霉菌及其研究技术. 北京: 中国农业出版社.
- 朱英波, 史凤玉, 李超, 左豫虎, 刘惕若. 2002. 辣椒抗疫性组织病理学初步研究. 中国农学通报, 18(5): 55-56.
- Shen S S, Choi O H, Lee S M, Park C S. 2002. In vitro and in vivo activities of a biocontrol agent, *Serratia plymuthica* A21-4, against *Phytophthora capsici*. The Plant Pathology Journal, 18(4): 221-224.

## Effects of Root Exudates from Different Resistant Pepper Varieties on *Phytophthora capsici*

WANG Ji-yuan<sup>1</sup>, LYU Ya-you<sup>1</sup>, YU Di<sup>2</sup>, ZHANG Wei-na<sup>1</sup>, PIAO Feng-zhi<sup>2</sup>, SHEN Shun-shan<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, Henan, China; <sup>2</sup>College of Horticulture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, Henan, China)

**Abstract:** In order to analyze the correlation between pepper root exudates and its resistance to disease, the effect of root exudates from 4 different resistant pepper varieties on *Phytophthora capsici* was tested. The results show that the root exudates from resistant pepper varieties ‘PRMND’ and ‘DNP56’ have significant inhibition effect on mycelia growth, zoosporangium formation, zoospore release and cystospore germination of *Phytophthora capsici*. While the root exudates from ‘Kexing No.6’ and ‘Xinjiyu’, which are highly susceptible varieties, have no obvious effect on mycelia growth, the root exudates of ‘Kexing No.6’ has no obvious effect on the zoosporangium formation, the root exudates of ‘Xinjiyu’ has obvious effect the zoosporangium formation, the root exudates of ‘Kexing No.6’ and ‘Xinjiyu’ have obvious inhibition effect on the zoospore release and cystospore germination of *Phytophthora capsici* at 8 hours after treatment, but its inhibition is significantly lower than that of the resistant varieties.

**Key words:** Root exudate; *Phytophthora capsici*; Disease resistance