

黄瓜嫁接苗与接种哈茨木霉菌黄瓜直根苗 对根腐病防效及根系生理响应

靳亚忠¹,熊亚男¹,齐娟¹,刘蕾庆²,任金立¹,
李春霞¹,卢美燕¹,陈慧¹,陈泳池¹

(1.黑龙江八一农垦大学园艺园林学院,黑龙江 大庆 163319; 2.青岛金妈妈农业科技有限公司,山东 青岛 266000)

摘要:为探明黄瓜嫁接栽培与木霉菌使用提高黄瓜幼苗抗根腐病的能力及生理调节的差异,利用哈茨木霉菌 DQ002 和根腐病病原菌孢子悬浮液对黄瓜直根苗根部接种与根腐病病原菌孢子悬浮液对黄瓜嫁接苗进行根部接种处理,测定黄瓜直根苗和黄瓜嫁接苗病害发生率及根系生理变化。结果表明:哈茨木霉菌 DQ002 通过激发黄瓜直根苗根系中 POD、PPO、SOD 活性而抑制了 H₂O₂ 积累和 O₂⁻ 的产生速率,并促进了黄瓜直根苗根系 PAL、几丁质酶、β-1,3-葡聚糖酶活性以及类黄酮含量升高,提高了抗病性;接种根腐病菌,黄瓜嫁接(T2)提高了根系中 POD 活性、培养前期 PPO 活性及培养后期 SOD 的活性,降低了 H₂O₂ 的积累和 O₂⁻ 产生速率,促进了 PAL、几丁质酶及培养后期的 β-1,3-葡聚糖酶活性,但 H₂O₂ 的积累和 O₂⁻ 产生速率显著高于哈茨木霉菌 DQ002 处理的黄瓜直根苗,而 PAL、几丁质酶、β-1,3-葡聚糖酶活性以及类黄酮含量明显低于木霉菌处理的直根苗;T3(先接种病原菌后接种木霉菌)和 T4(先接种木霉菌后接种病原菌)处理的黄瓜直根苗根腐病的发病率分别为 22.39% 和 17.87%,病情指数分别为 23.03% 和 14.33%,明显低于 CK1(清水处理直根苗)和 T1(单独病原菌处理直根苗)处理的发病率(35.82% 和 57.39%)和病情指数(37.10% 和 46.97%),以及黄瓜嫁接苗(T2)的发病率(42.90%)和病情指数(40.47%),但哈茨木霉菌使用时间不同则效果有异。黄瓜嫁接和哈茨木霉菌 DQ002 处理直根苗能提高黄瓜苗对根腐病的抗性,但是二者对黄瓜苗根系生理的调节作用存在差异,可能是导致根腐病发生存在差异的生理原因之一。

关键词:黄瓜直根苗;黄瓜嫁接苗;根腐病;哈茨木霉菌

中图分类号:S642.2 **文献标志码:**A

Control efficiency and root physiological response of cucumber grafted seedlings and cucumber straight root seedlings inoculated with *Trichoderma harzianum* on root rot

JIN Yazhong¹, XIONG Yanan¹, QI Juan¹, LIU Leiqing², REN Jinli¹,
LI Chunxia¹, LU Meiyang¹, CHEN Hui¹, CHEN Yongchi¹

(1. College of Horticulture and Landscape Architecture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China;

2. Golden Ma Ma Agricultural Science & Technology Company, Qingdao, Shandong 266000, China)

Abstract: To explore the different ability between grafting culture and *Trichoderma harzianum* in improving the resistance of cucumber seedlings to root rot and its physiological regulation, cucumber straight root seedlings were treated with the spore suspensions of *Trichoderma harzianum* DQ002 and root rot pathogen by inoculation treatment in root, and grafted seedlings were treated with root rot pathogen by inoculation treatment in root. Meanwhile, the incidence rate of root rot and physiological changes in roots of cucumber straight root seedlings and grafted seedlings were measured. The results showed that *Trichoderma harzianum* DQ002 inhibited the accumulation of H₂O₂ and the production rate of O₂⁻ by stimulating the activities of POD, PPO, SOD in the roots of cucumber straight

seedlings. The activities of PAL, chitinase, β -1, 3-glucanase and the flavonoid content in root of cucumber straight root seedlings were increased, and the disease resistance was improved. Under the condition of inoculation with root rot pathogen, grafting (T2) increased POD activity, PPO activity in the early stage and SOD activity in the late stage, and decreased H_2O_2 accumulation and O_2^- production rate, and promoted the activities of PAL and chitinase and β -1, 3-glucanase activity in the late stage. However, H_2O_2 accumulation and O_2^- production rate in cucumber grafted seedlings were significantly higher than those in the straight root seedlings treated with *Trichoderma harzianum* DQ002 (including T3 and T4), while the activities of PAL, chitinase, β -1, 3-glucanase and flavonoid content were markedly lower than those in the straight root seedlings treated with *Trichoderma harzianum* DQ002. In addition, the incidence and index of T3 (application of pathogen 2 days prior to application of *Trichoderma*) and T4 (application of *Trichoderma* 2 days prior to application of pathogen) were 22.39% and 17.87%, and disease index was 23.03% and 14.33%, respectively, which was significantly lower than that of CK1 (application of water), T1 (only application of pathogen) and cucumber grafted seedlings (T2). However, the application of *Trichoderma harzianum* in different times had different control effects on disease. The results indicated that both grafting culture of cucumber and *Trichoderma harzianum* DQ002 treatment on cucumber straight root seedlings improved the resistance of cucumber seedlings to root rot, but there were differences in the regulation of root physiology between both treatments, which might be one of the reasons for the difference in the occurrence of root rot.

Keywords: cucumber seedling; grafting cucumber seedling; root rot; *Trichoderma harzianum*

黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 是重要的葫芦科蔬菜作物, 为人类饮食提供了营养元素和食用纤维, 在世界范围内广泛种植, 尤其是设施生产中占有重要地位^[1], 但设施黄瓜连作栽培造成黄瓜根腐病发生较为严重^[2]。目前, 世界范围内黄瓜栽培主要依赖于嫁接栽培提高黄瓜对非生物胁迫、土传病害及线虫的抗性, 以达到优质高产的目的^[3-4]。黄瓜根腐病是由茄镰刀菌瓜类专化型 (*Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* Snyder et Hansen)^[5]、腐霉菌 (*Pythium ultimum*)^[6]、瓜类疫霉菌 (*Phytophthora melonis*)^[7]、辣椒疫霉菌 (*Phytophthora capsici*)^[8] 引起的一种根部病害。嫁接栽培可以提高瓜菜抗生物和非生物胁迫性能以及肥水利用, 减少农药投入量, 是黄瓜栽培中一种绿色、安全生产的重要方法。在番茄^[9]、辣椒^[10-11]、西瓜^[12]、甜瓜^[13] 等研究中, 利用嫁接栽培明显地控制了根腐病的发生, 得到了种植者广泛认可。但是, 近年来, 我国的山东、辽宁、内蒙古等地设施栽培黄瓜根腐病发生严重, 发生率高达 20% ~ 30%^[14-15], 可能与选择使用的南瓜砧木以及砧木与接穗组合搭配对根腐病的抗性有关^[12]。虽然嫁接栽培能促进黄瓜生长和提高黄瓜抗土传病害能力, 但是黄瓜的可溶性糖和香味品质明显降低^[16], 暗示了嫁接黄瓜品质的维持与抗病性的提高主要依赖于适宜砧木和接穗组合选择^[17-18]。此外, 在生产中, 蔬菜嫁接栽培的应用还存在嫁接苗的生产成本、种苗管理以及运输成本等较高的现象^[19]。前人研究表明, 作物根腐病的防治主要采用化学药剂进

行土壤消毒^[5,20-21]和田间灌根处理的方法^[22-26], 但是化学农药在杀死病原菌的同时也杀灭了土壤中的有益菌, 不利于可持续生产。因此, 在蔬菜生产中, 采用微生态理论指导生产是一种绿色、优质生产的方向, 同时也能降低蔬菜育苗及生产的成本^[27], 且利用有益微生物或拮抗微生物抑制土传病害病原物的生长, 以控制土传病害的发生, 已经在黄瓜和甜菜^[1,6,8]、蚕豆^[28]、木薯^[29]、油豆角^[30]、蓝莓^[31]、木香^[32]、烟草^[33]、大蒜^[34]以及大豆^[35]等作物栽培中得到验证。在黄瓜根腐病防治的研究中, 假单胞菌 (*Pseudomonas*) 和芽孢杆菌 (*Bacillus*) 菌株^[6,8]、哈茨木霉菌 (*Trichoderma harzianum*) 和淡紫拟青霉 (*Paecilomyces lilacinus*) 菌株^[36]以及拮抗镰孢菌 (*Fusarium*) 菌株^[37]能有效抑制根腐病病原菌生长及根腐病的发生, 且防效与化学药剂的防效相当^[36]。此外, 在田间试验中, 木霉菌与芽孢杆菌混合菌剂^[1]、木霉菌及芽孢杆菌生物有机肥^[15]及绿色木霉菌与草炭复配基质^[2]的使用能明显地降低黄瓜根腐病的发病率。

嫁接栽培与木霉菌的使用都能提高瓜菜作物的抗病性以及发挥促生的作用, 但是二者作用的效果及生理调节机理是否相同还不明确。研究表明, 木霉菌接种植物后会诱导植物体内抗病相关酶的活性增加及抗逆基因表达, 激发自身的抗性反应, 从而减轻病害的发生^[1]。此外, 木霉菌产生的效应因子, 如丝氨酸蛋白酶、几丁质酶等会激活植物信号传导途径, 诱导植物系统抗性和植物免疫系统,

参与病害防治^[38-39];木霉菌菌株与植物相互作用过程中产生的代谢物,既可以对植物病原菌发挥直接抑制作用,也可以通过触发植物防御系统或增强营养生长来增加抗性^[40]。在嫁接辣椒的研究中,接种根腐病原菌的条件下,嫁接辣椒植株与砧木根系中可溶性糖、苯丙氨酸裂解酶(PAL)活性、酚类物质及木质素含量显著高于对照,暗示了嫁接提高辣椒抗根腐病能力与苯丙烷类物质代谢有关^[41];在甜瓜^[13]、西瓜^[12]和黄瓜^[14-15]的研究中也发现嫁接能提高抗根腐病能力,但嫁接对其植株根系生理调节的研究报道较少,且是否与木霉菌调控直根苗抗根腐病的效果及生理调节相类似,鲜有报道。因此,本研究采用哈茨木霉菌 DQ002 与根腐病原菌孢子悬浮液对黄瓜幼苗进行根部接种,通过对比木霉菌与根腐病原菌接种直根苗与病原菌单独接种嫁接苗对根腐病的防效及根系生理变化,探讨木霉菌防治黄瓜根腐病效果以及调控根腐病的生理机理是否与嫁接苗抗根腐病的效果及调节生理相类似,所得结果将为研究木霉菌与植物的互作机制和推动木霉菌的开发应用提供科学基础,也将为设施黄瓜进行节本增效生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

采用插接法繁殖的嫁接黄瓜苗以及黄瓜直根苗(强雌性密刺黄瓜 6501),其中嫁接苗的接穗品种为强雌性密刺黄瓜 6501,砧木品种为砧大力 1989,均由青岛金妈妈农业科技有限公司提供。

哈茨木霉菌 DQ002,由黑龙江八一农垦大学园艺园林学院靳亚忠副教授提供,在 PDA 培养基上 28℃ 培养 5~7 d 后,用无菌水洗涤孢子,配制成 1×10^8 CFU · mL⁻¹ 孢子悬浮液,备用。

黄瓜根腐病原菌 (*Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* Snyder et Hansen),由青岛金妈妈农业科技有限公司提供,在 PDA 培养基上 28℃ 培养 5~7 d,用无菌水洗涤孢子,配制成 1×10^8 CFU · mL⁻¹,备用。

1.2 试验设计

试验在青岛金妈妈农业科技有限公司温室基地进行。采用穴盘育苗,基质为草炭:蛭石:珍珠岩=3:1:1的混合基质,播种前采用 1% 的次氯酸钠对砧木种子和黄瓜接穗种子进行消毒,清洗干净后播种、嫁接。当黄瓜直根苗与嫁接苗长至 3 叶 1 心时,采用根部接种的方式,把哈茨木霉 DQ002 与根腐病原菌孢子悬浮液接种于黄瓜苗的根部土壤

中,每棵幼苗接种 5 ml 相应的孢子悬浮液,木霉菌孢子悬浮液浓度为 1×10^8 CFU · mL⁻¹,病原菌孢子悬浮液浓度为 1×10^8 CFU · mL⁻¹,接种后进行薄膜覆盖。

试验设置 6 个处理,分别为 CK1,直根苗清水处理;CK2,嫁接苗清水处理;T1,直根苗接种病原菌处理;T2,嫁接苗接种病原菌处理;T3,直根苗先接种病原菌,2 d 后接种木霉菌;T4,直根苗先接种木霉菌,2 d 后接种病原菌。在接种后的 0、2、4、6、8 d 进行根部样品采集,每个处理采集 100 株黄瓜苗。将幼苗植株洗净后,分离根部样品,之后用锡纸包好,做标记,于液氮中快速冷冻,并放置于 -80℃ 超低温冰箱保存,用于生理指标的测定。

在接种根腐病 2 周后,每个处理采集 100 株黄瓜苗记录病情级别,计算发病率和病情指数。病害分级标准参照贲海燕等^[5]的分级方法,发病率和病情指数计算按照公式:

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

$$\text{病情指数 (DI)} = \frac{\sum (\text{病级株数} \times \text{病级代表值})}{(\text{调查总株数} \times \text{最高病级代表值})} \times 100$$

1.3 测定项目与方法

过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)、超氧化物歧化酶(SOD)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性及过氧化氢(H₂O₂)含量、超氧阴离子(O₂⁻)产生速率均采用李合生^[42]的方法测定;β-1,3-葡聚糖酶活性、几丁质酶活性测定采用陈玲等^[43]的方法测定;类黄酮含量采用 Juric 等^[44]的方法进行测定。

1.4 数据统计与分析

采用 Excel (2010) 和 SPSS.26.0 软件对数据进行处理和统计分析,采用 Duncan 新复极差法进行显著性分析,Origin 9.0 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 黄瓜幼苗根腐病的发生率及病情指数

由表 1 可以看到,直根苗清水处理(CK1)、嫁接苗清水处理(CK2)、直根苗接种病原菌(T1)、嫁接苗接种病原菌(T2)、直根苗先接种病原菌后接种哈茨木霉菌(T3)以及直根苗先接种木霉菌后接种病原菌(T4)发病率分别为 35.82%、23.05%、57.39%、42.90%、22.39%、17.87%,病情指数分别为 37.10%、25.67%、46.97%、40.47%、23.03%、14.33%,且 T3 和 T4 处理的黄瓜直根苗根腐病的发病率则明显低于 CK1、T1 和 T2 处理($P < 0.05$),而 T3 与 T4 处理间也存在明显差异,T4 处理黄瓜直根苗根腐病的发病率与病情指数均明显低于 T3 处理($P < 0.05$)。

2.2 黄瓜幼苗根系过氧化物酶(POD)活性

由图1可以得知,不同处理下黄瓜幼苗根系中POD活性存在差异。在接种培养期间,单独接种根腐病原菌(T1)、先接种病原菌后接种哈茨木霉菌

表1 黄瓜根腐病调查

Table 1 Investigation of cucumber root rot

处理 Treatment	发病率/% Incidence	病情指数/% Disease index
CK1	35.82±2.58c	37.10±0.15c
CK2	23.05±3.07d	25.67±0.24d
T1	57.39±5.00a	46.97±0.67a
T2	42.90±1.38b	40.47±1.08b
T3	22.39±3.85d	23.03±0.71d
T4	17.87±0.93e	14.33±0.99e

注:不同字母表示在 $P<0.05$ 水平下差异显著。

Note: Different letters indicate significant difference at $P<0.05$.

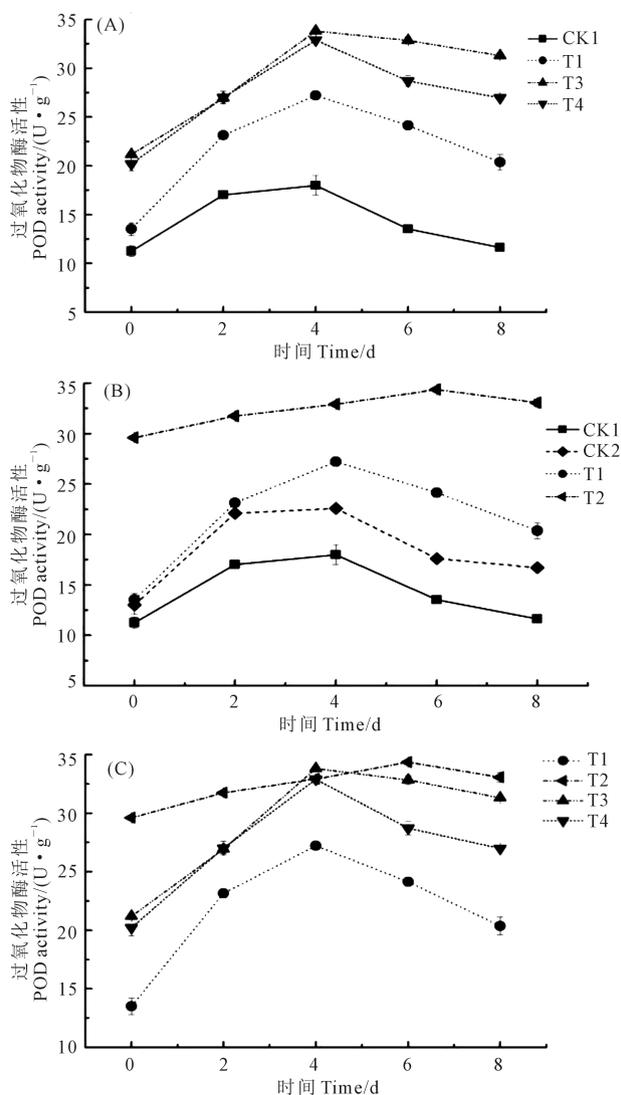


图1 不同处理下黄瓜幼苗根系过氧化物酶(POD)活性

Fig.1 POD activity of cucumber seedlings roots under different treatments

(T3)以及先接种哈茨木霉菌后接种病原菌(T4)处理的黄瓜直根苗根系中POD活性显著高于CK1($P<0.05$),且T3和T4处理的黄瓜直根苗根系中POD活性也明显高于T1处理;而在接种培养4d后,T3处理黄瓜直根苗根系POD活性显著高于T4处理($P<0.05$)(图1A)。在未接种根腐病原菌的条件下,随着培养时间的推移黄瓜嫁接苗(CK2)植株根系中的POD活性显著高于黄瓜直根苗(CK1)($P<0.05$),但变化规律相似;而在接种根腐病原菌条件下,黄瓜嫁接苗(T2)根系中的POD活性始终明显高于未接种处理的CK1、CK2以及T1处理($P<0.05$)(图1B)。此外,由图1C可以看出,在接种根腐病原菌条件下,黄瓜嫁接苗(T2)根系中POD活性高于T3和T4处理黄瓜直根苗根系中的POD活性($P<0.05$)(接种培养的第4天除外)。

2.3 黄瓜幼苗根系多酚氧化酶(PPO)活性

由图2A看出,黄瓜直根苗在接种根腐病原菌后,T1(单独接种病原菌)处理根系PPO活性在接种培养4d后明显高于CK1(对照)处理,但与T3(先接种病原菌后接种哈茨木霉菌)和T4(先接种哈茨木霉菌后接种病原菌)处理相比较,T1处理PPO活性则显著低于T3和T4处理,而T3和T4处理间无明显差异($P<0.05$)。由图2B可以看出,在接种根腐病原菌条件下,黄瓜嫁接苗(T2处理)根系中PPO活性显著高于CK1(清水处理黄瓜直根苗)和CK2(清水处理黄瓜嫁接苗),且在接种后培养的0~6d期间,T1处理植株根系PPO活性也明显低于T2(黄瓜嫁接苗)处理($P<0.05$)。此外,在接种根腐病原菌后培养期间,黄瓜嫁接苗(T2)根系PPO活性与T1处理的黄瓜直根苗根系PPO活性仅在培养前期差异明显($P<0.05$),而T3和T4处理的直根苗根系PPO活性则显著高于T2(嫁接苗)处理($P<0.05$)(图2C)。

2.4 黄瓜幼苗根系超氧化物歧化酶(SOD)活性

由图3A看出,黄瓜直根苗单独接种根腐病原菌的处理(T1)根系中SOD活性明显大于CK1(清水处理黄瓜直根苗),显著低于T3(先接种病原菌后接种哈茨木霉菌)和T4(先接种哈茨木霉菌后接种病原菌)处理直根苗根系SOD活性,而T3和T4处理之间相比,黄瓜直根苗根系中SOD活性仅仅在接种后的0d和6d期间存在差异,但都明显高于CK1处理($P<0.05$)。在接种根腐病原菌后培养2~8d期间,T2(嫁接苗接种根腐病原菌)处理的嫁接苗根系中SOD活性明显高于CK1和CK2(清水处理黄瓜嫁接苗)处理植株根系中SOD活性,而在接种培养的第2~8天期间,T2处理黄瓜嫁接

苗根系 SOD 活性则明显大于 T1 处理 ($P < 0.05$); 且发现接种后的第 0~6 天期间, T1 处理黄瓜直根苗根系 SOD 活性显著高于 CK2 处理嫁接苗根系 SOD 活性 ($P < 0.05$) (图 3B)。此外, 在接种病原菌条件下, T3 处理的黄瓜直根苗根系 SOD 活性始终显著高于 T2 处理 ($P < 0.05$), 而 T4 处理的黄瓜直根苗根系中的 SOD 活性则在接种培养前期高于 T2 处理 ($P < 0.05$) (图 3C)。

2.5 黄瓜幼苗根系活性氧

由图 4、5 可知, 不同处理条件下黄瓜幼苗植株根部中的 H_2O_2 含量和超氧阴离子 (O_2^-) 产生速率存在差异。单独接种根腐病病原菌 (T1)、先接种病原菌后接种哈茨木霉菌 (T3) 以及先接种木霉菌后接种病原菌 (T4) 处理下的黄瓜直根苗根系中的 H_2O_2 含

量显著高于 CK1, 而 O_2^- 产生速率则明显低于 CK1 ($P < 0.05$), 且 T1 处理黄瓜直根苗 H_2O_2 含量和 O_2^- 产生速率显著高于 T3、T4 处理和 CK1 (图 4A, 图 5A), 但是 CK1 处理黄瓜直根苗根系 O_2^- 产生速率则明显大于 T3 和 T4 处理 ($P < 0.05$) (图 5A)。在接种病原菌条件下, 黄瓜直根苗 (T1) 根系中的 H_2O_2 含量和 O_2^- 产生速率显著大于 T2 (单独接种病原菌的黄瓜嫁接苗) 和 CK2 处理 (培养的 0~2 d 除外) ($P < 0.05$) (图 4B, 图 5B), 而 T2 处理嫁接苗根系 H_2O_2 含量和 O_2^- 产生速率则明显高于 T3 和 T4 处理直根苗根系中的 H_2O_2 含量和 O_2^- 产生速率 ($P < 0.05$) (图 4C, 图 5C), 暗示了根腐病病原菌处理直根苗条件下, 接种木霉菌能有效降低直根苗根系 H_2O_2 的积累和 O_2^- 产生速率, 且效果优于嫁接苗处理 (T2)。

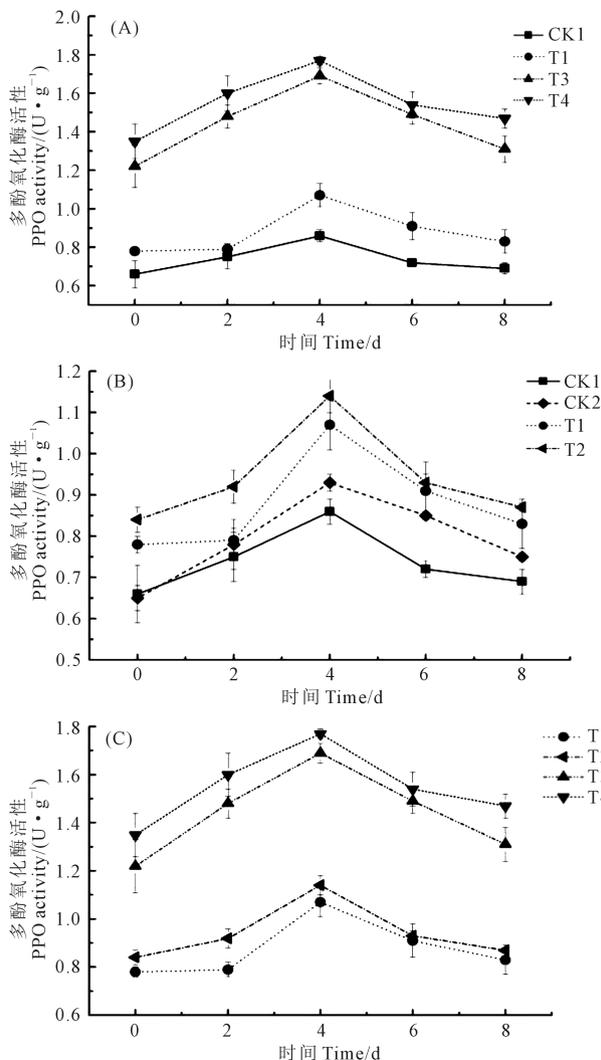


图 2 不同处理下黄瓜幼苗根系多酚氧化酶活性

Fig.2 PPO activity of cucumber seedlings roots under different treatments

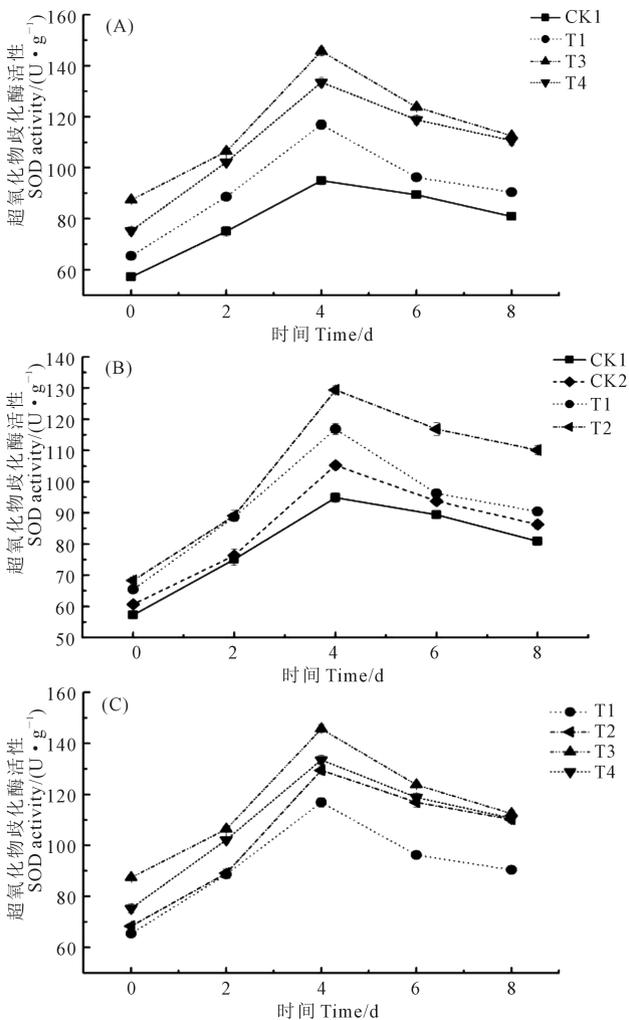


图 3 不同处理下黄瓜幼苗根系超氧化物歧化酶活性

Fig.3 SOD activity of cucumber seedlings roots under different treatments

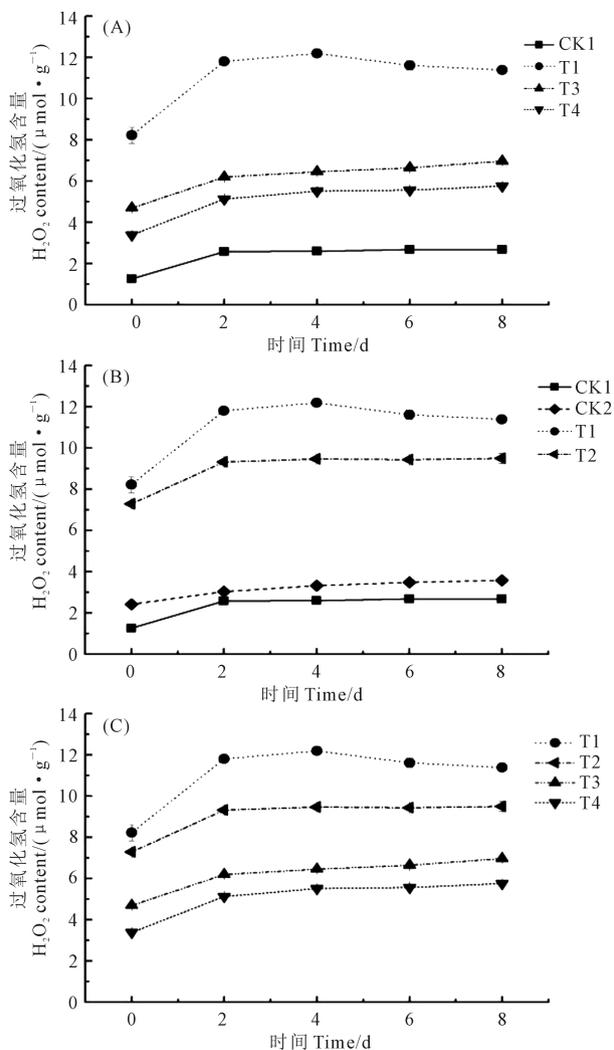
图4 不同处理下黄瓜幼苗根系过氧化氢(H_2O_2)含量

Fig.4 H_2O_2 content of cucumber seedlings roots under different treatments

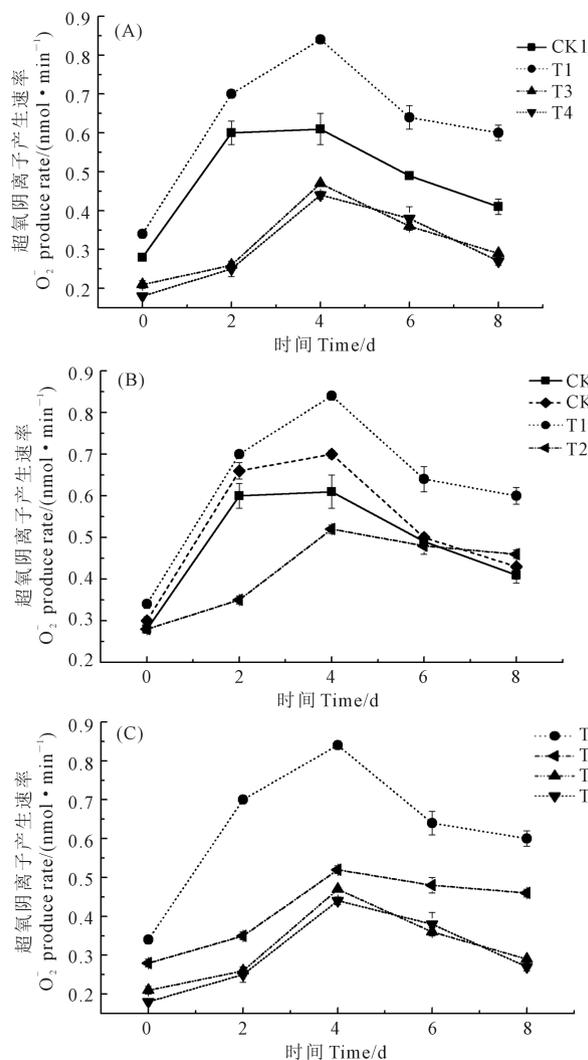
图5 不同处理下黄瓜幼苗根系超氧阴离子(O_2^-)产生速率

Fig.5 O_2^- produce rate of cucumber seedlings roots under different treatments

2.6 黄瓜幼苗根系 β -1, 3-葡聚糖酶和几丁质酶活性

由图6、7可以得知,接种后随着时间的推移,不同处理的黄瓜幼苗植株根部 β -1, 3-葡聚糖酶、几丁质酶活性变化不同。在接种处理后培养期间,单独接种根腐病原菌(T1)、先接种病原菌后接种哈茨木霉菌(T3)以及先接种木霉菌后接种病原菌(T4)处理下的黄瓜直根苗植株根系中 β -1, 3-葡聚糖酶、几丁质酶活性显著高于CK1($P < 0.05$),而T3和T4处理黄瓜直根苗根系 β -1, 3-葡聚糖酶(图6A)、几丁质酶(图7A)活性明显大于T1处理(单独接种病原菌)($P < 0.05$)。未接种病原菌条件下,CK1(清水处理黄瓜直根苗)和CK2(清水处理黄瓜嫁接苗)根系中 β -1, 3-葡聚糖酶、几丁质酶活

性之间无明显差异($P < 0.05$);而单独接种病原菌后,在培养的0~2 d期间,T1处理黄瓜直根苗根系中的 β -1, 3-葡聚糖酶活性明显低于T2处理嫁接苗根系中 β -1, 3-葡聚糖酶活性(图6B),而几丁质酶活性则在培养期间显著低于T2处理嫁接苗($P < 0.05$)(图7B)。此外,还发现接种根腐病的黄瓜嫁接苗(T2)根部中 β -1, 3-葡聚糖酶、几丁质酶活性明显高于CK1和CK2处理的 β -1, 3-葡聚糖酶和几丁质酶活性($P < 0.05$)。另外,在接种根腐病原菌条件下,T3和T4处理直根苗根系 β -1, 3-葡聚糖酶、几丁质酶活性则在培养期间始终显著高于T2处理的黄瓜嫁接苗根系中 β -1, 3-葡聚糖酶(第0天除外)、几丁质酶活性($P < 0.05$)。

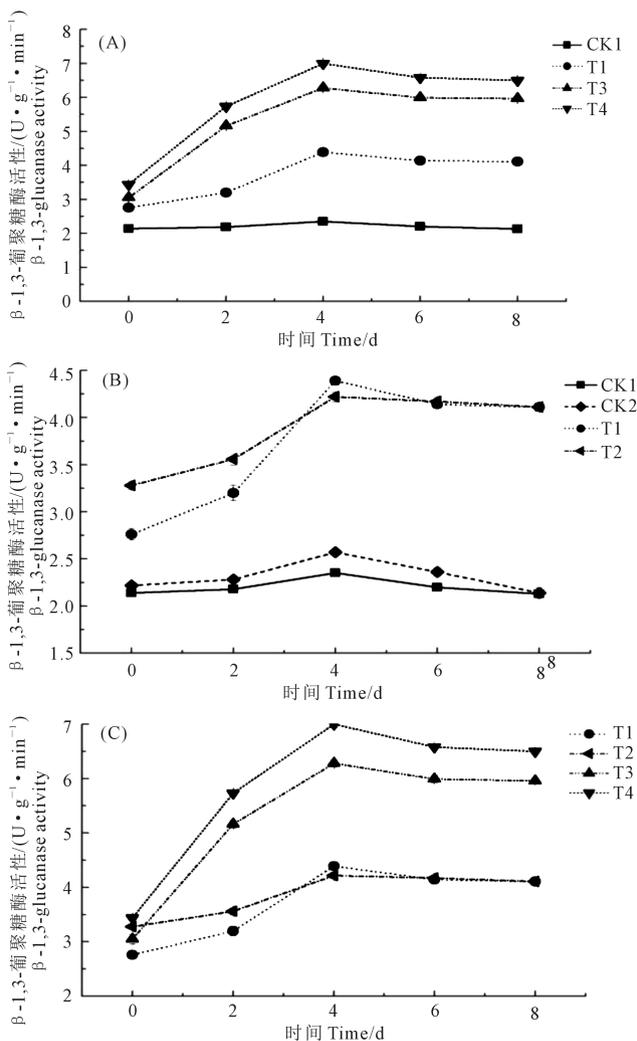


图 6 不同处理下黄瓜幼苗根系 β -1,3-葡聚糖酶活性
Fig.6 β -1,3-glucanase activity of cucumber seedlings roots under different treatments

2.7 黄瓜幼苗根系苯丙氨酸解氨酶活性

由图 8 可以看出,不同处理黄瓜苗根系中苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性之间存在差异。在接种病原菌条件下,根腐病病原菌促进了黄瓜直根苗(T1)(图 8A)和黄瓜嫁接苗(图 8B)根系中 PAL 活性的升高,在培养的第 4 天呈现峰值,且明显高于 CK1 和 CK2($P < 0.05$)。在培养期间,T3(先接种病原菌后接种木霉菌)和 T4(先接种木霉菌后接种病原菌)处理的黄瓜直根苗根系中 PAL 活性显著高于 T1(单独接种病原菌的黄瓜直根苗)处理,尤其是在培养的第 4 天($P < 0.05$)(图 8A)。此外,在未接种病原菌的条件下,CK1(清水处理)处理的黄瓜直根苗根系 PAL 活性明显低于 CK2 处理(清水处理)的黄瓜嫁接苗;同时也发现,接种病原菌后,随着培养时间的推移,T1 处理黄瓜直根苗根系中的 PAL 活性显著低于 T2 处理嫁接苗(培养的第 4 天除外)(P

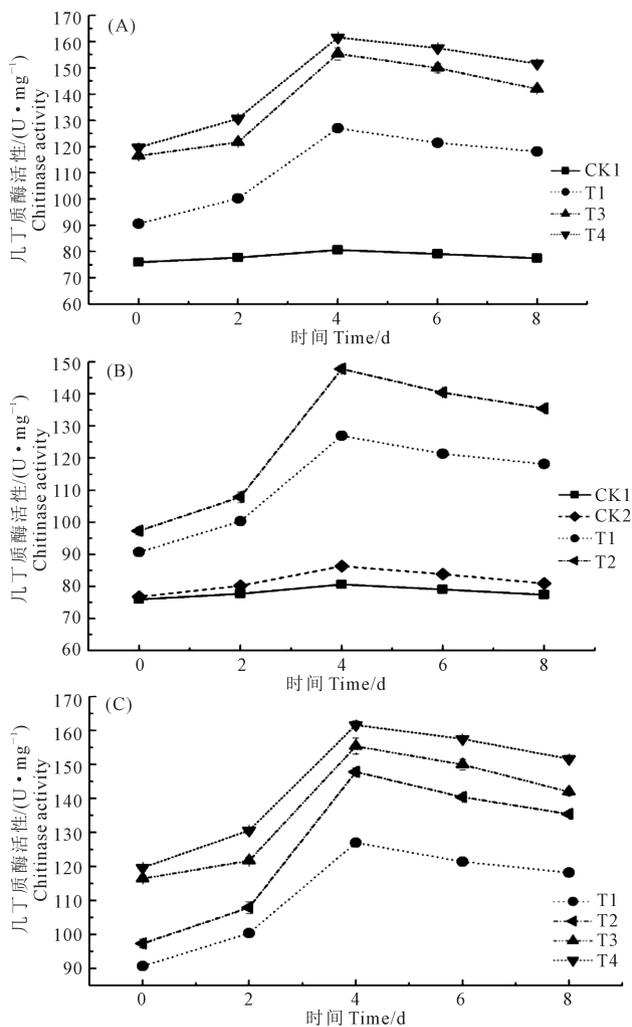


图 7 不同处理下黄瓜幼苗根系几丁质酶活性
Fig.7 Chitinase activity of cucumber seedlings roots under different treatments

< 0.05)(图 8B),但是 T3 和 T4 处理中黄瓜直根苗根系中 PAL 酶活性显著高于 T2 处理嫁接苗,尤其是在培养的第 4 天,差异显著($P < 0.05$)(图 8C)。

2.8 黄瓜幼苗根系类黄酮含量

由图 9 可以看出,黄瓜直根苗和嫁接苗根系中类黄酮含量随着培养时间的推移呈现先升高后降低趋势,且在培养的第 6 天呈现峰值。接种根腐病病原菌促进了黄瓜直根苗(T1)和嫁接苗(T2)根系中类黄酮含量的增加(图 9B),显著高于 CK1(清水处理黄瓜直根苗)和 CK2(清水处理黄瓜嫁接苗)($P < 0.05$);在先接种病原菌后接种木霉菌(T3)和先接种木霉菌后接种病原菌(T4)处理的黄瓜直根苗根系中类黄酮含量明显高于 CK1 处理,且在培养期间,T3 处理黄瓜直根苗根系中类黄酮含量显著大于 T1 处理,而 T4 处理黄瓜直根苗根系类黄酮含量则在培养的第 4 天后显著高于 T1 处理(图 9A)($P < 0.05$)。

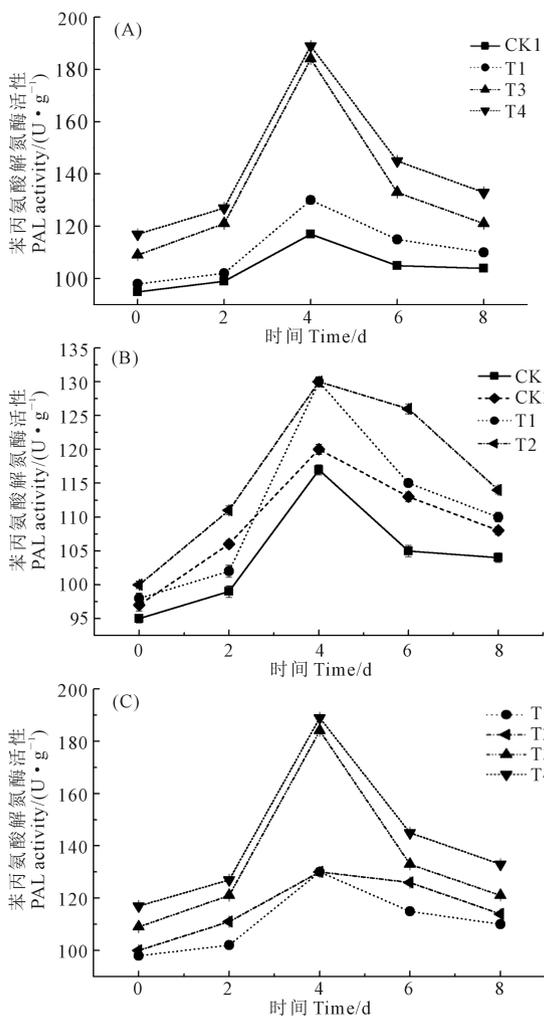


图8 不同处理下黄瓜幼苗根系苯丙氨酸解氨酶活性

Fig.8 PAL activity of cucumber seedlings roots under different treatments

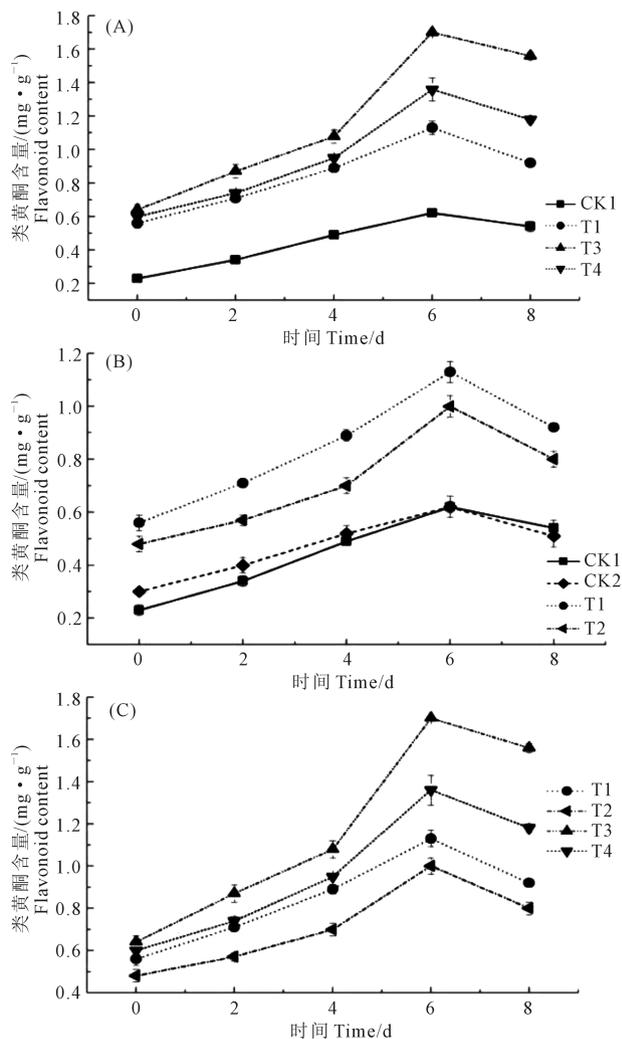


图9 不同处理下黄瓜幼苗根系类黄酮含量

Fig.9 Flavonoid content of cucumber seedlings roots under different treatments

另外,在接种病原菌的条件下,整个培养期间,T1、T3和T4处理黄瓜直根苗根系中的类黄酮含量始终显著高于T2(单独接种病原菌的嫁接苗)处理($P < 0.05$)(图9C)。

3 讨论

根腐病是黄瓜栽培中最严重的土传病害之一,设施栽培中根腐病发病尤为严重。目前为止,对于作物根腐病的防治,生产中多采用化学药剂进行土壤消毒和根部滴灌的方式^[3,22-26]。此外,瓜菜嫁接栽培能明显降低根腐病的发病率,是一种有效的防病、促生的栽培方式^[13,45-47];但是由于设施连续种植,在黄瓜嫁接栽培中也出现严重根腐病发生的现象^[14-15]。在本研究中,黄瓜嫁接采用的砧木为南瓜砧木(砧大力1989),嫁接黄瓜能促进黄瓜植株生长和产量增加(数据未发表),且未接种根腐病原菌的

黄瓜直根苗和嫁接苗根腐病发生率分别为35.82%和23.05%,而接种根腐病原菌条件下黄瓜直根苗和嫁接苗根腐病的发病率分别为57.39%和42.90%(表1),说明试验中采用的南瓜砧木虽有一定抗病能力,但也容易感染根腐病原菌,暗示了该南瓜砧木虽然能促进黄瓜生长,但对于黄瓜根腐病的抵抗能力具有局限性。作物根腐病防治研究中,发现利用木霉菌、芽孢杆菌、假单胞菌进行种子浸种^[6]、包衣^[8]、灌根^[36-37]或者配制生物有机肥^[15,48]以及微生物复配菌剂^[1,28]等都能明显控制根腐病的发生,效果与化学药剂对根腐病的防效相当^[37],且荞麦作物还田通过调节土壤中有益菌群数量的增加也明显降低了黄瓜根腐病的发生^[49]。本研究发现,接种根腐病原菌后,采用哈茨木霉菌DQ002处理的黄瓜直根苗(T3和T4处理),其抗根腐病的能力增强,且发病率分别为22.39%和17.87%,显著低于

CK1 和 T1 处理,说明哈茨木霉菌 DQ002 的使用降低了根腐病的发生程度,且效果优于嫁接黄瓜抗根腐病的能力;先用木霉菌处理黄瓜直根苗(T4)对根腐病的防治效果优于发病后木霉菌的使用(T3)效果,且哈茨木霉菌 DQ002 对黄瓜直根苗根腐病发生的控制效果与前人在黄瓜^[1,15,36]、蓝莓^[31]、木薯^[29]上研究结果一致。

木霉菌调节黄瓜直根苗抗根腐病的生理调节与黄瓜嫁接苗提高植株抗根腐病的生理调节作用是否相同,鲜有报道。研究表明,植物根际中添加木霉菌能提高植株对几种病原菌的抗性,如病毒、细菌和真菌,主要是通过激活植物体内不同的抗性机制,包括诱导系统抗性(ISR)、过敏反应(HR)和系统获得性抗性(SAR)^[50]。在黄瓜枯萎病的研究中,也发现木霉菌的使用能激发植物抗氧化酶活性,进而提高植株抗病性^[51]。本研究中,接种根腐病病原菌条件下,接种哈茨木霉菌 DQ002(T3 和 T4 处理)的黄瓜直根苗根系具有高的 POD、PPO、SOD 活性,明显降低了黄瓜直根苗根系中 H_2O_2 的积累和 O_2^- 产生速率,有效缓解了根系遭受根腐病病原菌的攻击而导致的活性氧对根系细胞的危害程度。在木薯的研究中,发现接种 *Trichoderma hamatum* URM 6656 的木薯植株具有较高的过氧化氢酶和抗坏血酸过氧化物酶活性,并激活了木薯系统抗性,抑制了由 *Fusarium solani* 导致的活性氧分子对木薯的胁迫,降低了根腐病的发生率^[29],而本研究中哈茨木霉菌 DQ002 处理黄瓜直根苗也呈现类似生理特性和较低的根腐病发病率。对黄瓜嫁接栽培而言,在亚低温和亚高温胁迫下嫁接黄瓜植株通过增强叶片 CO_2 的同化作用,提高了抗氧化酶活性及基因表达,降低了活性氧的合成能力和膜脂过氧化作用,缓解了亚低温和亚高温的危害^[52]。本研究中,接种根腐病病原菌的黄瓜嫁接苗(T2)根系具有高的 POD 活性,PPO 活性仅在处理前期稍高于接种病原菌的黄瓜直根苗(T1),而 SOD 活性仅在培养后期高于接种病原菌的黄瓜直根苗(T1),黄瓜嫁接苗(T2)根系中 H_2O_2 含量和 O_2^- 产生速率则显著低于 T1 处理(接种病原菌处理的黄瓜直根苗),表明接种根腐病病原菌条件下,黄瓜直根苗接种木霉菌和黄瓜嫁接都能通过激活植株体内抗氧化酶系统,从而有效减弱病原菌胁迫导致的过多 H_2O_2 和 O_2^- 积累对黄瓜植株根系的伤害,与亚低温和亚高温下嫁接黄瓜植株体内抗氧化系统变化及超氧离子积累情况相类似^[53]。在嫁接番茄研究中,在砧木和接穗完全亲和的嫁接苗中,病毒侵染后 NADPH 氧化酶、

POD、SOD、CAT(CAT2)和单加氧酶 1(MO1)活性及其基因表达升高,缓解了 ROS(活性氧)对嫁接苗的伤害^[53]。从本研究结果可知,接种根腐病病原菌的黄瓜嫁接苗根腐病发病率达 42.90%,而木霉菌接种处理的黄瓜直根苗(T3 和 T4)根腐病发病率为 22.39%和 17.87%,明显低于单独接种根腐病处理的黄瓜直根苗(T1)的发病率,暗示了所用南瓜砧木与黄瓜接穗之间可能由于相互兼容性较差^[53-54],导致抗氧化酶系统发挥清除活性氧能力低于木霉菌的调节作用,呈现出二者处理的黄瓜苗根系活性氧积累存在差异现象,也暗示了这两种处理所调节的抗氧化酶系统发挥作用的方式存在差异,这可能是木霉菌处理黄瓜直根苗与黄瓜嫁接苗对根腐病防治的差异原因之一。此外,在蛇瓜嫁接栽培中,发现南瓜砧木嫁接蛇瓜植株呈现出明显的土传病害症状(包括 *M. cannonballus* 引起的根腐病症状),而没有症状的嫁接植株为黄瓜属砧木嫁接的蛇瓜植株^[55],暗示了南瓜属砧木在葫芦科蔬菜嫁接栽培中对土传病害的抵御能力下降。因此,推测本研究中用到南瓜砧木对根腐病病原菌敏感,可能也是其嫁接苗根腐病发生率高于木霉菌处理黄瓜直根苗发病率的原因之一。这些推测还需进一步的研究进行验证。

木霉菌发挥其生物防治活性的途径之一是提高植物次生代谢物的合成。次生代谢物在木霉菌与植物互作中作为激活子或抗逆诱导子发挥作用,且抗逆诱导作用发挥主要是由于抗逆代谢物数量的增加^[56],这些物质包括来自于苯丙氨酸代谢途径^[41]。*Trichoderma harzianum* JF419706 接种黄瓜幼苗刺激植株体内脯氨酸和这总酚含量的升高,提高了黄瓜抗根腐病(*Fusarium oxysporium* f. sp. *cucumerinum* HQ905450 转化型根腐病原菌)能力^[1]。本研究结果表明,接种哈茨木霉菌 DQ002 促进了根腐病病原菌胁迫下黄瓜直根苗根系中 PAL 酶活性和类黄酮总量的增加,可能通过激活苯丙氨酸代谢途径中抗菌次生代谢物质-类黄酮的合成与积累,增强了细胞壁的抗菌侵染能力,进而缓解了病原菌对根系细胞的攻击与危害。辣椒接种根腐病病原菌后,嫁接辣椒根系中 PAL 活性、可溶性糖、酚类物质和木质素含量显著增加,且嫁接辣椒根腐病发病率和病情指数显著低于直根苗^[41]。本研究中,嫁接苗能明显降低黄瓜植株的根腐病发病率与病情指数,可能还与嫁接黄瓜苗根系中 PAL 活性、类黄酮的合成有关,但是 T2 处理嫁接苗根系类黄酮含量显著低于 T1 处理以及木霉菌处理的黄瓜直根苗(T3 和 T4),因

此推测木霉菌和病原菌接种黄瓜直根苗可能存在双重真菌的刺激作用,促进类黄酮积累,但木霉菌的促进作用是否占重要地位,还不清楚,需进一步进行探索。这些结果也暗示了接种病原菌条件下,嫁接黄瓜苗苯丙氨酸代谢途径生成的次生代谢物参与抗根腐病,但是其代谢物质发挥抗菌作用不以类黄酮为主要的抗病原菌物质,可能还存在苯丙氨酸代谢途径中合成的其他次生代谢物质——酚类物质、木质素等^[41],可能也是二者调节黄瓜根腐病发生率存在差异的原因之一,但需要从代谢组和分子生物学方面进行进一步验证。

当植物受到病原菌侵染时,也会诱导植物体内抗病相关的几丁质酶和葡聚糖酶类活性升高,增加防御能力^[56]。木霉菌几丁质酶基因(*Chit42*)在烟草、土豆以及大麦中的表达提高了其对土传病害的抗性^[57],而哈茨木霉菌 T-203 接种黄瓜根系促进了根系 POD 和几丁质酶活性升高,根系积累了大量的胍胍质和纤维素,诱导了植株系统抗性增强^[56]。这些研究说明木霉菌接种植物根系后,能通过诱导抗病相关的几丁质酶和葡聚糖酶活性增强抗病能力。本研究中黄瓜直根苗在接种根腐病原菌的条件下,接种木霉菌的处理(T3 和 T4)黄瓜直根苗根系几丁质酶、 β -1,3-葡聚糖酶活性显著升高,且明显高于嫁接苗(T2)处理,这可能也是哈茨木霉菌 DQ002 降低黄瓜直根苗根腐病发生率能力高于嫁接苗的原因之一。高苇等^[58]研究报道,在添加菌糠木霉菌发酵物后,土壤中几丁质酶和 β -1,3-葡聚糖酶的活性显著升高,对病原真菌细胞壁具有较强的分解作用;在接种辣椒疫霉菌前,嫁接苗接穗的 β -1,3-葡聚糖酶活性得到提高,且砧木抗病性越强,接穗中的抗病性相关酶活性越高^[59]。前人的研究暗示了木霉菌的使用和嫁接栽培都能有效防治土传病害,但本研究发现木霉菌接种处理对黄瓜直根苗的生理代谢及抗病相关酶活性的促进作用强于黄瓜嫁接对黄瓜苗的调节作用,因此木霉菌处理的黄瓜直根苗发病率则低于嫁接苗的发病率,而二者对抗病相关酶的调节产生差异的分子生物学机理还不清楚。木霉菌接种植物根系刺激植物产生的 H_2O_2 、NO、乙烯等信号物质参与了信号传导及植物抗毒物质、类黄酮、萜类、酚类物质及其他杀菌物质的合成^[60],且黄瓜与拟南芥中 MAPK 信号级联系统参与了木霉菌激活植物抗毒素合成^[56],提高了抗逆能力。此外,哈茨木霉菌接种拟南芥促进了 *WRKY18*、*WRKY40*、*WRKY60* 和 *WRKY33* 的表达,启动了 JA 介导的防御系统^[61],而在甜瓜中,哈茨木霉

菌提高 SA 和 JA 水平,改变了甜瓜对尖孢镰刀菌的响应^[62];在烟草中,绿色木霉菌激活乙烯的释放和植株抗逆系统^[56]。而关于蔬菜嫁接栽培提高植株抗病害性能中,是否也存在与木霉菌调节植株抗病性能相同的分子调控网络,鲜有报道;且在黄瓜抗根腐病方面,二者之间是否存在分子调控网络的差异而导致病害发生率差异,还需进一步探讨。

4 结 论

为了了解黄瓜嫁接栽培与木霉菌使用提高黄瓜幼苗抗根腐病的能力及生理调节的差异,调查了根腐病原菌接种条件下黄瓜嫁接苗和哈茨木霉菌接种的黄瓜直根苗发病率及幼苗的根系生理差异。本研究表明,黄瓜嫁接和哈茨木霉菌 DQ002 接种黄瓜直根苗都能降低根腐病发病率和病情指数,且哈茨木霉菌 DQ002 接种黄瓜直根苗发病率低于黄瓜嫁接苗发病率,同时也发现先接种哈茨木霉菌后接种根腐病原菌处理(T4)黄瓜直根苗根腐病发病率最低。此外,在接种根腐病原菌条件下,黄瓜嫁接和接种木霉菌处理黄瓜直根苗都能通过促进植株根系 POD、PPO 和 SOD 活性升高而抑制 H_2O_2 和 O_2^- 含量的增加,并提高了根系中 PAL、 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶活性以及类黄酮含量,进而提高了黄瓜直根苗对根腐病的抗性,但木霉菌接种处理调节黄瓜苗根系生理的效果优于黄瓜嫁接处理,因此导致了两者黄瓜幼苗根腐病发病率的差异。由此可知,在根腐病发生之前,利用嫁接栽培和哈茨木霉菌接种处理直根苗都能有效预防病害的发生,但存在防治效果的差异,可能与二者调节黄瓜幼苗根系生理的不同有关。

参 考 文 献:

- [1] ALAMRI S A, HASHEM M, HAFEZ E E, et al. The efficiency of two new formulated biofungicides in the control of damping-off and root rot of cucumber and improving the plant defence system[J]. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 2012, 45(14): 1673-1691.
- [2] 郭现坤,柴阿丽,石延霞,等.菌糠木霉混配基质对黄瓜的促生作用及对根腐病的防治效果[J].中国蔬菜,2018,(8):32-37.
- [3] GUO X K, CHAI A L, SHI Y X, et al. Studies on growth-promoting effect on cucumber seedlings of spent mushroom substrates fermented by *Trichoderma viride* and its biocontrol efficiency on cucumber root rot [J]. China Vegetables, 2018,(8): 32-37.
- [4] XIA X J, WANG Y J, ZHOU Y H, et al. Reactive oxygen species are involved in brassinosteroid-induced stress tolerance in cucumber[J]. Plant Physiology, 2009, 150(2): 801-814.
- [5] XIN Z J, ZHANG J, GE L G, et al. A putative 12-oxophytodienoate reductase gene *CsOPR3* from *Camellia sinensis*, is involved in wound

- and herbivore infestation responses[J]. *Gene*, 2017, 615: 18-24.
- [5] 贾海燕,石延霞,谢学文,等. 氰化钙土壤消毒对黄瓜根腐病及土壤病原菌的控制效果[J]. *园艺学报*, 2016, 43(11): 2173-2181.
- BEN H Y, SHI Y X, XIE X W, et al. Studies of soil improvement effect of *Calcium cyanamide* and its control efficiency on soil-borne diseases of vegetable crops[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2016, 43(11): 2173-2181.
- [6] GEORGAKOPOULOS D G, FIDDAMAN P, LEIFERT C, et al. Biological control of cucumber and sugar beet damping-off caused by *Pythium ultimum* with bacterial and fungal antagonists[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2002, 92(6): 1078-1086.
- [7] MOHAGHEGH P, KHOSHGOFTARMANESH A H, SHIRVANI M, et al. Effect of silicon nutrition on oxidative stress induced by *Phytophthora melonis* infection in cucumber[J]. *Plant Disease*, 2011, 95(4): 455-460.
- [8] KHABBAZ S E, ZHANG L, CÁCERES L A, et al. Characterisation of antagonistic *Bacillus* and *Pseudomonas* strains for biocontrol potential and suppression of damping-off and root rot diseases[J]. *Annals of Applied Biology*, 2015, 166(3): 456-471.
- [9] HIBAR K, DAAMI-REMADI M, JABNOUN-KHIAREDDINE H, et al. Control of fusarium crown and root rot of tomato, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, by grafting onto resistant rootstocks[J]. *Plant Pathology Journal*, 2006, 5: 161-165.
- [10] SAADOUN M, ALLAGUI M B. Management of chili pepper root rot and wilt (caused by *Phytophthora nicotianae*) by grafting onto resistant rootstock[J]. *Phytopathologia Mediterranea*, 2013, 52(1): 141-147.
- [11] ABEBE A M, WAI K P P, SIDDIQUE M I, et al. Evaluation of phytophthora root rot- and bacterial wilt-resistant inbred lines and their crosses for use as rootstocks in pepper (*Capsicum annuum* L.)[J]. *Horticulture Environment and Biotechnology*, 2016, 57(6): 598-605.
- [12] BELTRÁN R, VICENT A, GARCÍA-JIMÉNEZ J, et al. Comparative epidemiology of monosporascus root rot and vine decline in muskmelon, watermelon, and grafted watermelon crops[J]. *Plant Disease*, 2008, 92(1): 158-163.
- [13] JANG Y, HUH Y C, PARK D K, et al. Greenhouse evaluation of melon rootstock resistance to monosporascus root rot and vine decline as well as of yield and fruit quality in grafted 'inodorus' melons[J]. *Korean Society of Horticultural Science*, 2014, 32(5): 614-622.
- [14] LI B J, LIU Y, SHI Y X, et al. First report of crown rot of grafted cucumber caused by *Fusarium solani* in China[J]. *Plant Disease*, 2010, 94(11): 1377.
- [15] 贺字典,吴素霞,宋晓飞,等. 生防菌与茄病镰刀菌在黄瓜根际动态变化[J]. *中国生物防治学报*, 2016, 32(3): 357-364.
- HE Z D, WU S X, SONG X F, et al. Population dynamics of trichoderma spp., *Bacillus subtilis* and *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* in cucumber rhizosphere[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2016, 32(3): 357-364.
- [16] COLLA G, ROUPHAEL Y, JAWAD R, et al. The effectiveness of grafting to improve NaCl and CaCl₂ tolerance in cucumber[J]. *Scientia Horticulturae*, 2013, 164: 380-391.
- [17] KYRIACOU M C, ROUPHAEL Y, COLLA G, et al. Vegetable grafting: the implications of a growing agronomic imperative for vegetable fruit quality and nutritive value[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 741.
- [18] ZHAO L L, LIU A Q, SONG T F, et al. Transcriptome analysis reveals the effects of grafting on sugar and α -linolenic acid metabolisms in fruits of cucumber with two different rootstocks[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2018, 130: 289-302.
- [19] LEE J M, KUBOTA C, TSAO S J, et al. Current status of vegetable grafting: diffusion, grafting techniques, automation[J]. *Scientia Horticulturae*, 2010, 127(2): 93-105.
- [20] ABD-EL-KAREEM F. Effect of acetic acid fumigation on soil-borne fungi and cucumber root rot disease under greenhouse conditions[J]. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 2009, 42(3): 213-220.
- [21] 袁也,顾红蕊,张潇丹,等. 臭氧对三七自毒皂苷的降解和根腐病菌的抑制效应研究[J]. *云南农业大学学报(自然科学)*, 2019, 34(1): 124-131.
- YUAN Y, GU H R, ZHANG X D, et al. Effect of ozone on the degradation of *Panax notoginseng* autotoxic saponins and the inhibition of root rot pathogens[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2019, 34(1): 124-131.
- [22] 曹海潮,刘庆顺,白海秀,等. 30%噻虫胺·吡唑醚菌酯·苯醚甲环唑悬浮种衣剂的研制及其在花生田应用的效果[J]. *中国农业科学*, 2019, 52(20): 3595-3604.
- CAO H C, LIU Q S, BAI H X, et al. Development of 30% clothianidin·pyraclostrobin·difenoconazole flowable concentrate for seed-coating and its application effect in peanut field[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2019, 52(20): 3595-3604.
- [23] 白剑宇,罗达,吴正保,等. 3种杀菌剂对榛子苗期根腐病防效的比较[J]. *东北林业大学学报*, 2020, 48(7): 133-135.
- BAI J Y, LUO D, WU Z B, et al. Protective analysis of three fungicides against hazelnut root rot at seedling stage[J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2020, 48(7): 133-135.
- [24] 吴晓云,胡尊瑞,韩振芹,等. 八种杀菌剂对草莓根腐病的室内毒力和田间防效评价[J]. *北方园艺*, 2020, (17): 49-53.
- WU X Y, HU Z R, HAN Z Q, et al. Toxicity and field control efficacy of eight chemical and biological fungicides on strawberry root rot[J]. *Northern Horticulture*, 2020, (17): 49-53.
- [25] 陈雨姗,尹群,王杰,等. 红花玉兰根腐病化学防治药剂的室内筛选及毒力测定[J]. *东北林业大学学报*, 2020, 48(9): 107-113.
- CHEN Y S, YIN Q, WANG J, et al. Laboratory screening and virulence determination of chemical agents for controlling root rot of *Magnolia wufengensis*[J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2020, 48(9): 107-113.
- [26] 肖荣凤,陈燕萍,陈梅春,等. 太子参根腐病原菌的鉴定及防治药剂筛选[J]. *植物保护学报*, 2020, 47(6): 1333-1342.
- XIAO R F, CHEN Y P, CHEN M C, et al. Pathogen identification of root rot of *Pseudostellaria heterophylla* plant and fungicide screening for its efficient control[J]. *Journal of Plant Protection*, 2020, 47(6): 1333-1342.

- [27] 梁建根. 黄瓜根围病原菌与拮抗菌的生态学及 PGPR 诱导抗性机制的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
- LIANG J G. Studies on the ecology of pathogens and its antagonistic bacteria in the rhizosphere of cucumber and mechanisms of induced resistance by plant growth-promoting rhizobacteria [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2005.
- [28] ABDEL-MONAIM M F. Improvement of biocontrol of damping-off and root rot/wilt of faba bean by salicylic acid and hydrogen peroxide[J]. Mycobiology, 2013, 41(1): 47-55.
- [29] DA SILVA J A T, DE MEDEIROS E V, DA SILVA J M, et al. *Trichoderma aureoviride* URM 5158 and *Trichoderma hamatum* URM 6656 are biocontrol agents that act against cassava root rot through different mechanisms[J]. Journal of Phytopathology, 2016, 164(11/12): 1003-1011.
- [30] 王杰, 刘焕成, 田甜, 等. 东北油豆角腐皮镰孢菌根腐病拮抗芽胞杆菌的筛选与鉴定[J]. 北方园艺, 2021, (5): 15-20.
- WANG J, LIU H C, TIAN T, et al. Screening and identification of antagonistic *Bacillus* spp. strains against snap bean root rot caused by *Fusarium solani* f.sp. phaseoli in Northeast China[J]. Northern Horticulture, 2021, (5): 15-20.
- [31] 侯瑞, 王永灿, 徐芳玲. 蓝莓根际土壤真菌多样性及根腐病拮抗菌的筛选[J]. 西南林业大学学报(自然科学), 2019, 39(6): 77-85.
- HOU R, WANG Y C, XU F L. Screening of fungal diversity and root rot antagonistic bacteria in rhizosphere soil of *Vaccinium sp* [J]. Journal of Southwest Forestry University(Natural Sciences), 2019, 39(6): 77-85.
- [32] 李巧玲, 杨毅, 肖忠, 等. 木香根腐病生防细菌的筛选与鉴定[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2020, 42(9): 71-76.
- LI Q L, YANG Y, XIAO Z, et al. Screening and identification of antagonistic bacteria against *Fusarium oxysporum* causing root rot in *Saussurea coatus* (Falc.) Lipech[J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 2020, 42(9): 71-76.
- [33] 陈长卿, 褚逸轩, 谢昭, 等. 生物杀菌剂对烟草镰刀菌根腐病的防治效果及农艺性状的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2019, 47(6): 41-46.
- CHEN C Q, CHU Y X, XIE Z, et al. Control effect of biological fungicides on tobacco fusarium root rot and influence on agronomic traits of tobacco[J]. Journal of Northwest A&F University(Social Science Edition), 2019, 47(6): 41-46.
- [34] 崔曼, 尹彦舒, 张梦琦, 等. 一株大蒜根际细菌特性研究及其对田间大蒜产量和土壤酶活性的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2019, (1): 173-179.
- CUI M, YIN Y S, ZHANG M Q, et al. Study on the characteristics of a rhizosphere bacteria in garlic and its effect on garlic yield and soil enzyme activities in field[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2019, (1): 173-179.
- [35] 杜宜新, 石姐姐, 阮宏椿, 等. 银川大豆根腐病原鉴定及种衣剂对其防治效果[J]. 中国农学通报, 2021, 37(8): 103-109.
- DU Y X, SHI N N, RUAN H C, et al. Study on pathogenic fungi causing soybean root rot in Yinchuan and field disease control efficiency of seed coating[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2021, 37(8): 103-109.
- [36] 张雅静, 宋美燕, 张怡静, 等. 兼防黄瓜根腐病和根结线虫病的淡紫拟青霉和哈茨木霉的筛选[J]. 生物技术通报, 2021, 37(2): 40-50.
- ZHANG Y J, SONG M Y, ZHANG Y J, et al. Identification of *Purpureocillium lilacinum* and *Trichoderma harzianum* strains for simultaneously controlling cucumber root rot and root-knot nematode diseases[J]. Biotechnology Bulletin, 2021, 37(2): 40-50.
- [37] 张怡静, 康舒雨, 房庆, 等. 京津冀设施大棚根际土壤中筛选出的防治根腐病的生防镰孢菌[J]. 植物病理学报, 2021, 51(5): 765-774.
- ZHANG Y J, KANG S Y, FANG Q, et al. Screening and identification of nonpathogenic *Fusarium spp.* for biocontrol of root rot disease from Jing-Jin-Ji region[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2021, 51(5): 765-774.
- [38] 徐文, 黄媛媛, 贾振华, 等. 木霉防治灰霉病的研究进展[J]. 微生物学通报, 2017, 44(9): 2184-2190.
- XU W, HUANG Y Y, JIA Z H, et al. Advances in biocontrol of *Botrytis cinerea* by *Trichoderma* spp [J]. Microbiology, 2017, 44(9): 2184-2190.
- [39] 李梅, 田莹, 蒋细良. 植物内生木霉菌研究进展[J]. 中国生物防治学报, 2020, 36(2): 155-162.
- LI M, TIAN Y, JIANG X L. Advances in research on endophytic *Trichoderma* in plants[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2020, 36(2): 155-162.
- [40] VINALE F, SIVASITHAMPARAM K. Beneficial effects of *Trichoderma* secondary metabolites on crops [J]. Phytotherapy Research, 2020, 34(11): 2835-2842.
- [41] 姜飞, 刘业霞, 刘伟, 等. 嫁接辣椒根腐病抗性及其与苯丙烷类物质代谢的关系[J]. 中国蔬菜, 2010, (8): 46-52.
- JIANG F, LIU Y X, LIU W, et al. Relationship between root rot resistance and phenylpropanoid metabolism in graft capsicum [J]. China Vegetables, 2010, (8): 46-52.
- [42] 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. Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000.
- [43] 陈玲, 董坤, 杨智仙, 等. 苯甲酸胁迫下间作对蚕豆自毒效应的缓解机制[J]. 中国生态农业学报, 2017, 25(1): 95-103.
- CHEN L, DONG K, YANG Z X, et al. Alleviation mechanism of intercropping with wheat for faba bean autotoxicity under benzoic acid stress[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2017, 25(1): 95-103.
- [44] JURIC S, SOPKO STRACENSKI K, KRÓL-KILINSKA Z, et al. The enhancement of plant secondary metabolites content in *Lactuca sativa* L. by encapsulated bioactive agents[J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 3737.
- [45] VITALE A, ROCCO M, ARENA S, et al. Tomato susceptibility to *Fusarium* crown and root rot: effect of grafting combination and proteomic analysis of tolerance expression in the rootstock [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2014, 83: 207-216.
- [46] 姜飞, 刘业霞, 艾希珍, 等. 嫁接辣椒根际土壤微生物及酶活性与根腐病抗性的关系[J]. 中国农业科学, 2010, 43(16): 3367-3374.
- JIANG F, LIU Y X, AI X Z, et al. Study on relationship among mi-

- croorganism,enzymes' activity in rhizosphere soil and root rot resistance of grafted capsicum[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43 (16): 3367-3374.
- [47] 段曦,孙晨晨,孙胜楠,等.嫁接辣椒根系分泌物对根腐病和青枯病的影响[J].*园艺学报*,2017,44(2):297-306.
- DUAN X, SUN C C, SUN S N, et al. Effects of grafted pepper root exudates on root rot and bacterial wilt[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2017, 44(2): 297-306.
- [48] 王文丽,李娟,赵旭.生物有机肥对连作当归根际土壤细菌群落结构和根腐病的影响[J].*应用生态学报*,2019,30(8):2813-2821.
- WANG W L, LI J, ZHAO X. Effects of biological organic fertilizer on rhizosphere soil bacteria community and root rot diseases of continuous cropping *Angelica sinensis*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(8): 2813-2821.
- [49] ABBASI P A, RENDEROS W, FILLMORE S. Soil incorporation of buckwheat as a pre-plant amendment provides control of *Rhizoctonia* damping-off and root rot of radish and *Pythium* damping-off and root rot of cucumber[J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2019, 41 (1): 24-34.
- [50] ZHAO K, PENTTINEN P, ZHANG X P, et al. Maize rhizosphere in Sichuan, China, hosts plant growth promoting *Burkholderia cepacia* with phosphate solubilizing and antifungal abilities [J]. *Microbiological Research*, 2014, 169(1): 76-82.
- [51] 马光恕,梁泉,李梅,等.木霉菌对黄瓜生理特性及立枯病防治效果的影响[J].*中国生物防治学报*,2021,37(2):277-285.
- MA G S, LIANG X, LI M, et al. Effect of trichoderma on cucumber damping-off and physiological characteristics [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2021, 37(2): 277-285.
- [52] LI H, WANG F, CHEN X J, et al. The sub/supra-optimal temperature-induced inhibition of photosynthesis and oxidative damage in cucumber leaves are alleviated by grafting onto figleaf gourd/luffa rootstocks[J]. *Physiologia Plantarum*, 2014, 152(3): 571-584.
- [53] SPANÒ R, FERRARA M, GALLITELLI D, et al. The role of grafting in the resistance of tomato to viruses [J]. *Plants*, 2020, 9 (8): 1042.
- [54] MANICKAM R, CHEN J R, SOTELO-CARDONA P, et al. Evaluation of different bacterial wilt resistant eggplant rootstocks for grafting tomato[J]. *Plants*, 2021, 10(1): 75.
- [55] FLORES-LEÓN A, GARCÍA-MARTÍNEZ S, GONZÁLEZ V, et al. Grafting snake melon [*Cucumis melo* L. subsp. *melo* Var. *flexuosus* (L.) Naudin] in organic farming: effects on agronomic performance; resistance to pathogens; sugar, acid, and VOC profiles; and consumer acceptance [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 613845.
- [56] SOOD M, KAPOOR D, KUMAR V, et al. *Trichoderma*: the “secrets” of a multitiered biocontrol agent [J]. *Plants*, 2020, 9 (6): 762.
- [57] HOWELL C R. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts[J]. *Plant Disease*, 2003, 87(1): 4-10.
- [58] 高苇,李宝聚,王万立,等.菌糠木霉发酵物对黄瓜枯萎病的防效研究[J].*北方园艺*,2013,(16):140-143.
- GAO W, LI B J, WANG W L, et al. Study on control effect of *Trichoderma* spp-spent mushroom substrate fermentation to cucumber fusarium wilt[J]. *Northern Horticulture*, 2013,(16): 140-143.
- [59] 邹春蕾,刘长远,王丽萍,等.辣椒不同砧木嫁接组合的疫病抗性评价及叶片防御酶活性的变化分析[J].*沈阳农业大学学报*,2015,46(2):155-160.
- ZOU C L, LIU C Y, WANG L P, et al. Evaluation of phytophthora-resistant and analysis of defense enzymes activity in leaf for different grafted combinations of pepper[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2015, 46(2): 155-160.
- [60] HOWELL C R, HANSON L E, STIPANOVIC R D, et al. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*[J]. *Phytopathology*, 2000, 90(3): 248-252.
- [61] BROTMAN Y, LANDAU U, CUADROS-INOSTROZA Á, et al. Trichoderma-plant root colonization: escaping early plant defense responses and activation of the antioxidant machinery for saline stress tolerance[J]. *Plos Pathogens*, 2013, 9(3): e1003221.
- [62] MARTÍNEZ-MEDINA A, PASCUAL J A, PÉREZ-ALFOCEA F, et al. *Trichoderma harzianum* and *Glomus intraradices* modify the hormone disruption induced by *Fusarium oxysporum* infection in melon plants[J]. *Phytopathology*, 2010, 100(7): 682-688.