

网络出版时间:2020-07-02

网络出版地址:<https://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1359.S.20200630.2238.030.html>

纳米 ZnO-Ag 复合材料对小麦根腐病菌侵染下小麦幼苗生长的影响

郭艾英,许晓越,杨晓妮,齐艳玲,蔡爱军

(河北科技师范学院农学与生物科技学院,河北秦皇岛 066004)

摘要:为探讨纳米杀菌剂对小麦根腐病害的防控效果,以小麦京东8号为供试材料,通过盆栽试验,探究土壤接种麦根腐平脐孺孢(*Bipolaris sorokiniana*)情况下,自制纳米ZnO-Ag复合材料对*B. sorokiniana*的抑菌效果和小麦幼苗生长的影响。结果表明,纳米ZnO-Ag复合材料能显著抑制小麦根腐菌菌丝的生长,抑制作用随ZnO-Ag浓度的增加而增强;200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ZnO-Ag对病菌菌丝的抑制率高达91.17%,有效中浓度(EC₅₀)为34.15 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$;在土壤接菌情况下,经大于12.5 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag复合材料处理,小麦种子的发芽势和发芽率、幼苗的根长、株高、地上部鲜重和干重、地下部鲜重和干重均显著高于对照组(未加纳米材料),小麦幼苗发病率显著低于对照组;浓度大于12.5 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag处理组的小麦幼苗根长/株高和根冠比显著低于对照组。由此可得,纳米ZnO-Ag复合材料能够有效抑制土壤中小麦根腐病菌的生长,促进小麦种子萌发和幼苗生长,降低幼苗发病率。此结果为ZnO-Ag防控小麦根腐害提供了理论依据。

关键词:小麦根腐病;纳米ZnO-Ag复合材料;小麦;种子萌发;幼苗生长

中图分类号:S512.1;S311

文献标识码:A

文章编号:1009-1041(2020)07-0857-09

Effect of ZnO-Ag Nanocomposites on the Seedlings Growth of Wheat Infected by *Bipolaris sorokiniana*

GUO Aiying, XU Xiaoyue, YANG Xiaoni, QI Yanling, CAI Aijun

(College of Agronomy and Biotechnology, Hebei Normal University of Science & Technology, Qinhuangdao, Hebei 066004, China)

Abstract: To investigate the effect of nano-based antifungal agents on wheat root rot, ZnO-Ag nanocomposites were synthesized. For ZnO-Ag nanocomposites, their antifungal activity against *Bipolaris sorokiniana* and the effect on the growth of wheat seedling were investigated using *B. sorokiniana* inoculated wheat(Jingdong 8) as a model plant through a pot experiment. The results showed that the growth of *B. sorokiniana* was significantly inhibited by ZnO-Ag nanocomposites, and the inhibitory effect of the nanocomposites was increased with the increase of concentration. The inhibition rate of 200 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ZnO-Ag nanocomposite was up to 91.17% and EC₅₀ was 34.15 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$. When the wheat plants were treated with *B. sorokiniana* in the presence of ZnO-Ag nanocomposites ($> 12.5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$) in soil, the germination vigor and germination rate of wheat seeds, the wheat root length, seedling height, fresh and dry weight of above ground part, fresh and dry weight of under ground part were significantly higher than those of control group (without nanocomposites), but the incidence of wheat seedlings was significantly lower than that in control group. When the wheat seedlings were

收稿日期:2020-01-09 修回日期:2020-01-15

基金项目:河北省教育厅科学研究计划项目(QN2019027);河北省自然基金项目(C2019407065);河北科技师范学院海洋科学研究专项(HY2018011)

第一作者 E-mail:guoguoling@126.com

通讯作者:蔡爱军(E-mail:caiaijun80@163.com)

treated with the concentration of ZnO-Ag nanocomposites higher than $12.5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, their ratio of root length to seedling height and the root-shoot ratio were significantly decreased, compared with those of control group. In summary, ZnO-Ag nanocomposites effectively inhibited the growth of *B. sorokiniana* in soil, promoted the germination of wheat seeds and seedling growth, and reduced the seedling incidence. The results provide a theoretical basis for the prevention and control of wheat root rot by ZnO-Ag nanocomposites.

Key words: *Bipolaris sorokiniana*; ZnO-Ag nanocomposites; Wheat; Seed germination; Seedling growth

小麦是全球分布范围最广的粮食作物,其产量和种植面积均居世界谷物的首位^[1]。小麦产量与其生长状况有关,其生长过程中易受到多种病害的危害,导致产量降低或品质变差,其中土传病害尤为严重^[2]。麦根腐平脐孺孢(*Bipolaris sorokiniana*)是一种能够侵染小麦的重要土传病原菌,该病菌引发的病害在小麦整个生育期均可发生,通常表现为种子发芽率低、根腐病、茎基腐病、叶斑病和穗腐病等症状,导致小麦大幅减产,严重时减产超过 50%^[3-6]。小麦根腐病在中国北部地区比较普遍,近年来在广东、福建等小麦种植区也有发现,对小麦安全生产造成严重威胁^[7]。

目前,小麦根腐病的防治主要以化学药剂处理种子为主,以农田作物轮作、筛选抗病品种、生物防治等为辅^[8]。化学药剂处理种子能够有效降低病害发生几率,但长期不合理使用不仅导致病原菌对药剂产生抗性,破坏土壤微生物群落平衡,也造成了环境污染^[9-10]。农田作物轮作与种植区域有关,利用水旱轮作可有效降低土壤中有害病原菌的存活率^[11-12]。利用抗病品种防治小麦根腐病,经济安全,但选育工作时间不仅长,而且在种植过程中植株的抗病能力普遍较差^[13-14]。生物防治对于降低病菌数量、恢复土壤健康有重要实践意义,但土壤自然环境多变,病菌种类多样,生防微生物定殖能力差,且生防菌具有定向性,难以大规模使用^[15-16]。因而,小麦根腐病防治仍是一个亟待解决的难题。

近几年,随着纳米技术的发展,纳米抗菌材料应运而生。与传统化学药剂相比,纳米材料具有安全、高效、广谱、不易产生抗药性等特点,已成为当前领域的研究热点。已有研究表明,纳米银对多种细菌、真菌和支原体具有强烈的抑制作用,是一种良好的无机抗菌材料^[17]。Mishra 等^[18]采用生物法合成的纳米银粒子能够抑制小麦叶片上小麦根腐菌分生孢子的萌发,降低小麦植株感染叶

斑病的几率。Mishra 和 Singh^[19]研究发现,纳米银在低浓度时显著抑制小麦根腐菌菌丝的生长。李琴琴等^[20]采用化学还原法制备的纳米银能够破坏小麦赤霉病菌完整性,抑制病菌生长。Ali 等^[21]采用苦艾水提取物合成纳米银材料对引发植物病害的六种寄生疫霉菌具有抗疫能力,能够提高植物存活率。2016 年陈娟妮等^[22]采用静电自组装法合成石墨烯-纳米银材料, $4.68 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的浓度就能够抑制禾谷镰刀菌分生孢子萌发,抑制离体叶片上病斑的发展。这些研究结果表明,纳米银对植物病原菌分生孢子萌发和菌丝生长具有显著抑制作用,但是关于纳米银对病菌侵染下植物生长影响的研究尚不多见。

本研究以杨树叶为生物模板制备纳米 ZnO-Ag 复合材料,探究 ZnO-Ag 对根腐病菌菌杀菌活性,通过盆栽试验,在土壤接种小麦根腐菌情况下,测定纳米 ZnO-Ag 复合材料对小麦种子萌发和幼苗生长的影响,旨在为小麦根腐病的田间防治提供参考,为 ZnO-Ag 的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株和培养基

本研究所用麦根腐离孺孢菌(*B. sorokiniana*),由中国农业科学院作物科学研究所作物遗传育种中心提供。PDA 固体培养基:称取马铃薯 200 g,洗净去皮切碎,加水 1 000 mL 煮沸 30 min,趁热过滤后加入葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,定容至 1 000 mL,121 °C 灭菌 30 min,备用。

1.1.2 供试小麦和土壤

供试的京东 8 号小麦由河北科技师范学院植物生理与生物技术实验室提供。播种前种子用 3% H₂O₂ 浸泡 10 min,无菌水清洗 3 次。将种子浸泡于无菌水中,12 h 后选取颗粒饱满种子,备用。供试土壤取自河北科技师范学院试验田,

土壤置于高压蒸汽灭菌锅中 121 ℃, 灭菌 1 h, 杀灭可能存在的微生物和孢子, 晾干备用。重复 3 次, 盆钵为塑料盆, 上口内径 9 cm, 盆底内径 7 cm, 高 7.5 cm, 于高压蒸汽灭菌锅中 121 ℃, 灭菌 15 min, 备用。

1.2 方法

1.2.1 纳米 ZnO-Ag 复合材料的制备

采用生物模板法合成纳米材料。以杨树叶片为模板, 将新鲜的杨树叶片用去离子水清洗干净, 置于 2% (v/v) 戊二醛溶液中固定 6 h。用去离子水清洗后, 将叶片浸泡于 2% (v/v) 的盐酸溶液中, 12 h 后去离子水清洗。将叶片置于 100 mL 溶有 $Zn(NO_3)_2$ (0.08 M) 和 $AgNO_3$ (0.06 M) 的溶液中, 60 ℃ 保温 72 h。将叶片水洗风干, 置于马弗炉中 500 ℃ 煅烧 2 h, 研碎即得。利用 X-射线衍射(X-ray diffraction, XRD) 和透射电子显微镜(transmission electron microscopy, TEM) 对材料成分和形貌进行分析。

1.2.2 小麦根腐菌的活化与培养

将保藏的小麦根腐菌菌液涂布于 PDA 固体培养基上, 28 ℃ 培养 4~5 d, 用打孔器取直径为 6 mm 的菌饼转接于新的 PDA 固体培养基中, 28 ℃ 培养, 待菌丝铺满平板后置于 4 ℃ 冰箱保存, 备用。

1.2.3 纳米 ZnO-Ag 复合材料对小麦根腐菌菌丝抑制效果的测定

采用菌丝生长速率法测定。具体步骤: 无菌条件下, 用灭菌的 PAD 培养基稀释纳米 ZnO-Ag 复合材料, 终浓度分别为 12.5、25、50、100、200 $\mu g \cdot mL^{-1}$, 以不加 ZnO-Ag 材料的培养基为对照。取生长一致直径为 6 mm 的小麦根腐菌菌饼接种至上述平板中心, 28 ℃ 静置培养, 每个处理重复 3 次。待对照菌落铺满平板时停止培养, 沿平板直径十字交叉法测量菌落直径, 计算菌丝生长抑制率。菌丝生长抑制率 = (对照菌落直径 - 处理菌落直径) / (对照菌落直径 - 0.6 cm)

1.2.4 纳米 ZnO-Ag 复合材料对小麦根腐病菌侵染下小麦幼苗生长效应的测定

盆栽试验参考张姗姗等^[23]研究方法, 于 2019 年 3 月中旬在河北科技师范学院植物生理与生物技术实验室实施。灭菌后盆钵中装入供试土壤, 每盆 500 g。纳米 ZnO-Ag 复合材料用无菌水稀释, 超声处理 30 min。每盆分次加入 50 mL 不同浓度的 ZnO-Ag 复合材料溶液, 使土壤中材料终

浓度分别为 12.5、25、50、100、200 $\mu g \cdot g^{-1}$, 每个浓度 5 次重复, 对照加入 50 mL 无菌水。将直径为 6 mm 的小麦根腐菌饼分成 4 份均匀埋入土中, 约 5 cm 深, 28 ℃ 培养 1 周使病菌充分生长。之后每盆均匀播种小麦 12 粒, 约 3 cm 深, 于培养箱中培养。光周期设置为白天 14 h、22 ℃, 夜晚 10 h、18 ℃, 相对湿度 80%。每天使用无菌水灌溉, 维持小麦正常生长。

1.2.5 测定项目

小麦播种后第 3 天测定发芽势, 7 d 测定发芽率。播种 21 d 后, 将盆中所有幼苗连根拔出, 洗净, 测定幼苗发病率, 幼苗发病数是幼苗根部变褐、腐烂死亡的幼苗数和未萌发种子数之和。将幼苗以子叶着生部位为准分开地上、地下部分, 分别测量根长和株高, 称量鲜重后置于烘箱中 85 ℃ 烘干至恒重, 并计算根冠比。

发芽势 = 前 3 d 发芽种子总数 / 供试种子粒数 × 100%

发芽率 = 7 d 发芽种子粒数 / 供试种子粒数 × 100%

幼苗发病率 = (未萌发种子数 + 发病幼苗数) / 供试种子数 × 100%

根冠比 = 地下部分干重 / 地上部分干重

1.3 数据处理

采用 Excel 2017 进行数据整理和绘图, 采用 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析和 LSD 显著性检验 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 纳米 ZnO-Ag 复合材料的表征

利用生物模板法制得的纳米 ZnO-Ag 复合材料呈黑色细粉状。XRD 分析图谱(图 1A)显示为尖锐峰, 表示材料的结晶度较好。图 1A 标注 * 的为 ZnO 衍射峰, 2θ 值在 31.68°、34.32°、36.16°、47.44°、56.50°、62.76° 和 67.86° 处, 与标准卡(JCPDS No. 36-1451)^[24] 上 (100)、(002)、(101)、(102)、(110)、(103) 和 (112) 晶面所对应的 2θ 值基本一致。图 1A 标注 # 的光谱 2θ 值, 从小到大依次对应 Ag 的四个晶面 (111)、(200)、(220) 和 (311), 这与 Ag 的标准图谱卡片(JCPDS No. 04-0783)相吻合^[25]。TEM 结果(图 1B)表明, 该材料为近圆形的纳米层状结构, 平均颗粒直径为 30~50 nm。高分辨透射电子显微成像(high-resolution transmission electron microscop-

py, HRTEM)结果表明,晶格间距为 0.26 nm 对应 ZnO 的(002)晶面^[26],晶格间距为 0.23 nm 对

应 Ag 的(111)晶面^[27],由此可进一步确定,本材料为 ZnO 与 Ag 的复合体。

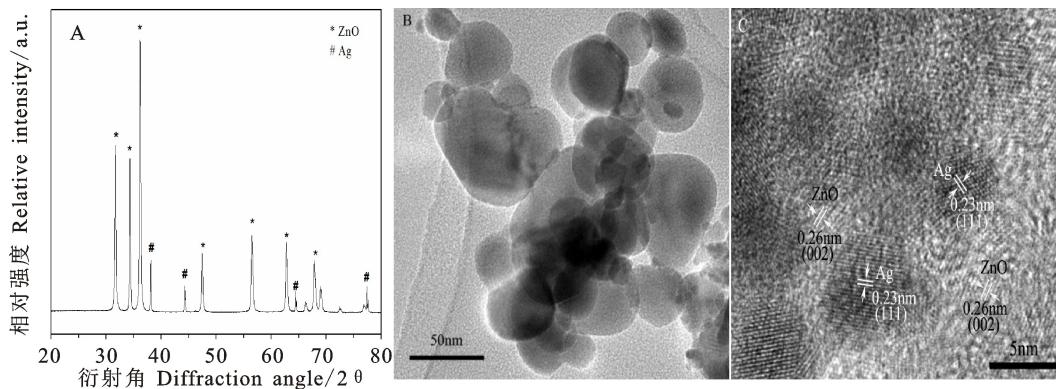


图 1 纳米 ZnO-Ag 复合材料的 XRD 衍射花样(A)、TEM 图(B)和 HRTEM 图(C)

Fig. 1 XRD patterns(A), TEM image(B) and HRTEM image(C) of ZnO-Ag nanocomposites

2.2 纳米 ZnO-Ag 复合材料的抑菌效果

由表 1 可知,纳米 ZnO-Ag 复合材料能够抑制小麦根腐病菌菌丝的生长,菌丝生长抑制率随材料浓度的升高而增大,200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ZnO-Ag 对病菌菌丝生长抑制率高达 91.17%;不同浓度复

合材料处理的病菌菌丝生长抑制率间差异均显著($P < 0.05$)。纳米 ZnO-Ag 对病菌的毒力回归方程为 $y = 2.5818 + 1.5771x$, $\text{EC}_{50} = 34.15 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,说明 ZnO-Ag 复合材料对小麦根腐病菌的抑制作用较强。

表 1 纳米 ZnO-Ag 复合材料对小麦根腐病菌菌丝生长影响

Table 1 Effect of ZnO-Ag nanocomposites on growth of *Bipolaris sorokiniana*

浓度 Concentration/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	抑制率 Inhibition rate/%	毒力回归方程 Regression equation of toxicity	r^2	$\text{EC}_{50}/$ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	95%置信区间 95% confidence interval/%
12.5	27.73 ± 0.66e				
25	41.34 ± 1.49d				
50	54.78 ± 1.29c	$y = 2.5818 + 1.5771x$	0.9875	34.15	28.23 ~ 41.30
100	74.03 ± 0.23b				
200	91.17 ± 2.69a				

同列数据后不同字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。下同。

Different letters following data within same column mean significant difference among treatments at 0.05 level. The same in table 2.

2.3 纳米 ZnO-Ag 复合材料对根腐病菌侵染下小麦种子萌发的影响

由表 2 可知,随着土壤中纳米 ZnO-Ag 复合材料浓度增加,小麦种子的发芽势和发芽率均逐渐升高。12.5 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag 处理的小麦种子发芽势与对照无显著差异,其他浓度处理组发芽势显著升高($P < 0.05$)。200 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag 处理的小麦种子发芽势显著高于 12.5、25、50 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 处理组,与 100 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 处理组无显著差异,而 ZnO-Ag 浓度为 25、50、100 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 处理间小麦种子发芽势无显著差异。不同浓度 ZnO-Ag 处理的小麦种子发芽率均显著高于对照。12.5 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag 处理的小麦发芽率显

著低于其他浓度处理,浓度为 25、50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 处理间发芽率无显著差异。

2.4 纳米 ZnO-Ag 复合材料对根腐病菌侵染下小麦幼苗生长的影响

2.4.1 对小麦幼苗根长和株高的影响

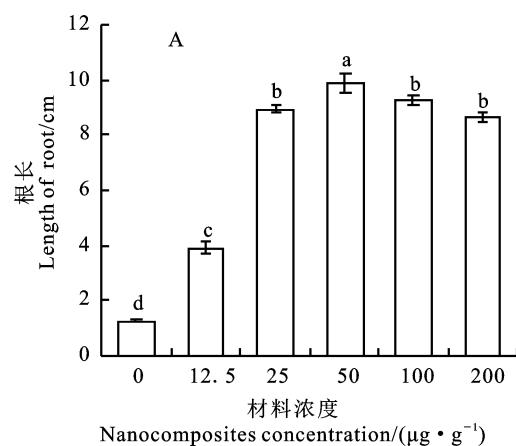
由图 2A、图 2B 可知,ZnO-Ag 复合材料处理的小麦幼苗根长和株高均显著高于对照($P < 0.05$)。由图 2A 可知,经 50 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag 处理的小麦幼苗根长最长,平均为 9.88 cm,显著高于其他处理;ZnO-Ag 浓度为 25、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 处理的小麦幼苗根长显著高于 12.5 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 处理,前三个浓度处理间无显著差异($P < 0.05$)。由图 2B 可知,50 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag 处理

表 2 纳米 ZnO-Ag 复合材料

处理对小麦种子萌发的影响

Table 2 Effect of ZnO-Ag nanocomposites
on germination of wheat seeds %

浓度 Concentration/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	发芽势 Germination vigor	发芽率 Germination rate
0	8.33±3.73c	11.67±2.04c
12.5	21.67±5.65c	31.67±4.86b
25	28.33±4.25b	88.33±4.24a
50	36.67±6.77b	93.33±4.08a
100	58.33±5.89ab	95.00±2.33a
200	71.67±4.25a	96.67±2.04a

图柱上不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

Different letters above columns mean significant difference among treatment at 0.05 level. The same in figures 3—6.

图 2 纳米 ZnO-Ag 复合材料对小麦根长和株高的影响

Fig. 2 Effect of ZnO-Ag nanocomposites on the length of wheat root and the height of wheat seedlings

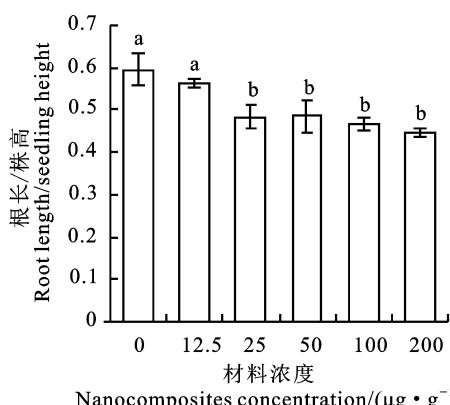


图 3 纳米 ZnO-Ag 复合材料对小麦根长/株高的影响

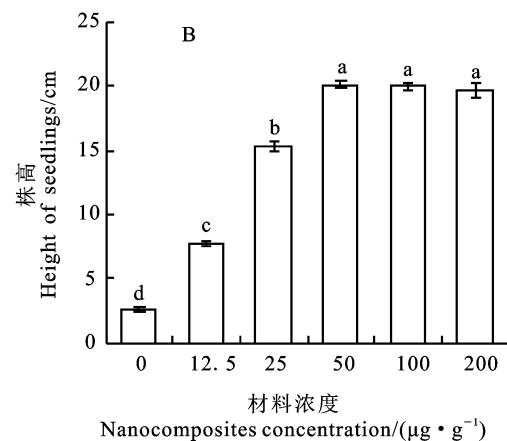
Fig. 3 Effect of ZnO-Ag nanocomposites on the ratio
of wheat root length and seedling height

2.4.2 对小麦幼苗鲜重和干重的影响

由图 4A、4C 可知,随着土壤中纳米 ZnO-Ag 复合材料浓度的升高,小麦幼苗地下部鲜重、干重呈上升趋势,且均显著高于对照处理 ($P < 0.05$)。

的小麦幼苗株高最高,平均为 20.13 cm,显著高于 12.5、25 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 处理组,与 100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 浓度处理组无显著差异 ($P < 0.05$)。

由图 3 可知,随着土壤中纳米 ZnO-Ag 复合材料浓度的升高,小麦根长/株高逐渐降低。12.5 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag 处理的小麦幼苗根长/株高与对照间无显著差异,其他浓度处理显著低于对照组 ($P < 0.05$)。浓度为 25、50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag 处理的小麦幼苗的根长/株高较对照组分别降低了 18.9%、18.3%、21.6% 和 24.8%,各浓度处理间无显著差异 ($P < 0.05$)。



200 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag 处理的小麦幼苗地下部鲜重、干重均显著高于其他浓度处理组,较对照组分别升高 8.93 和 8.37 倍;ZnO-Ag 浓度为 50 和 100 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 处理间小麦幼苗地下部鲜重、干重均无显著差异 ($P < 0.05$)。由图 4B、4D 可知,不同浓度纳米 ZnO-Ag 复合材料处理的小麦幼苗地上部鲜重、干重均显著高于对照组,12.5、25、50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag 处理的小麦幼苗地上部鲜重较对照组分别升高 2.47、8.39、24.90、23.15 和 29.62 倍,干重较对照组分别升高 2.16、4.14、7.22、7.36 和 9.05 倍。ZnO-Ag 浓度为 50 和 100 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 处理间小麦幼苗地上部鲜重、干重均无显著差异,其他浓度处理间差异显著 ($P < 0.05$, 图 4B、4D)。

2.4.3 对小麦幼苗根冠比的影响

由图 5 可知,与对照相比,土壤中添加浓度为 12.5 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag 复合材料处理的小麦幼苗

根冠比显著升高,而 25、50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag 处理组显著降低($P < 0.05$)。12.5 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag 处理的小麦幼苗根冠比为

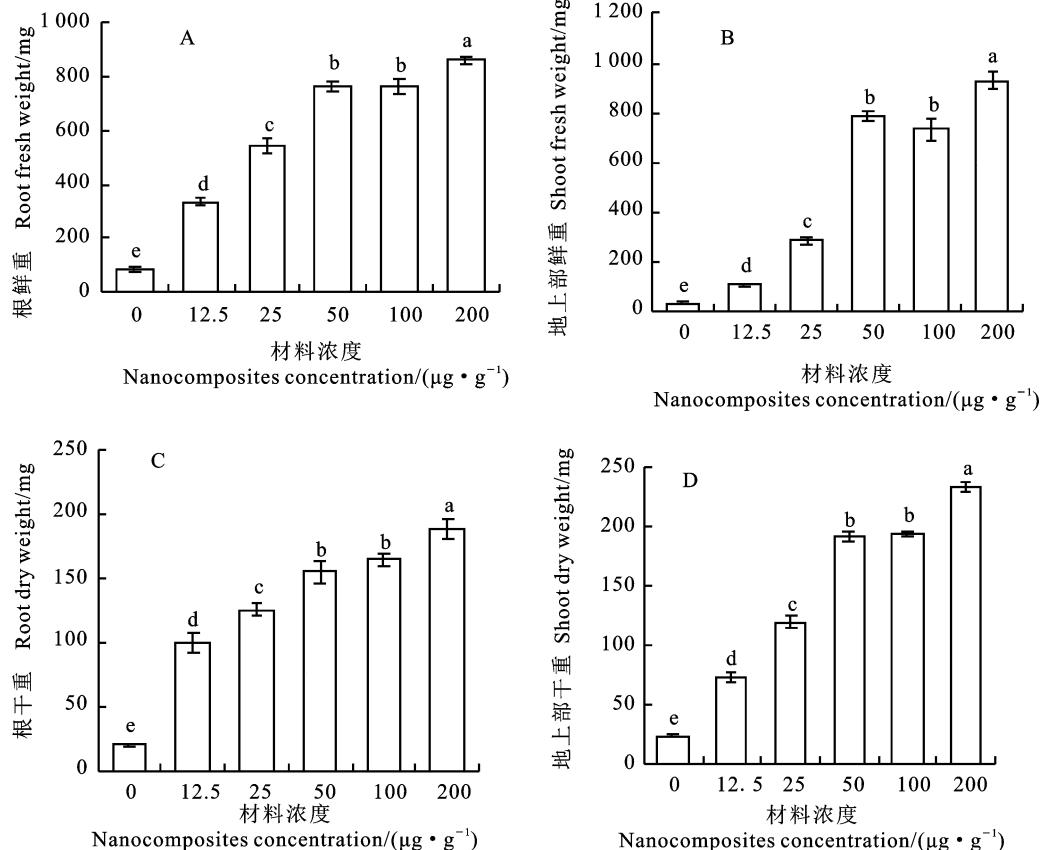


图 4 纳米纳米 ZnO-Ag 复合材料对小麦幼苗地下部和地上部鲜重、干重的影响

Fig. 4 Effect of ZnO-Ag nanocomposites on the weight of wheat root and shoot

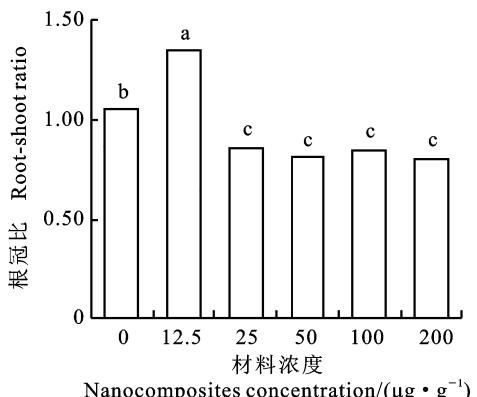


图 5 纳米 ZnO-Ag 复合材料对小麦根冠比的影响

Fig. 5 Effect of ZnO-Ag nanocomposites on the root-shoot ratio of wheat

2.5 纳米 ZnO-Ag 复合材料对根腐病菌侵染下小麦幼苗发病率的影响

由图 6 可知,随 ZnO-Ag 复合材料浓度的增加小麦幼苗发病率逐渐下降。12.5 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 材

料处理的小麦幼苗发病率与对照组相比无显著差异($P < 0.05$),而 25、50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag 处理组均显著降低,较对照组分别降低了

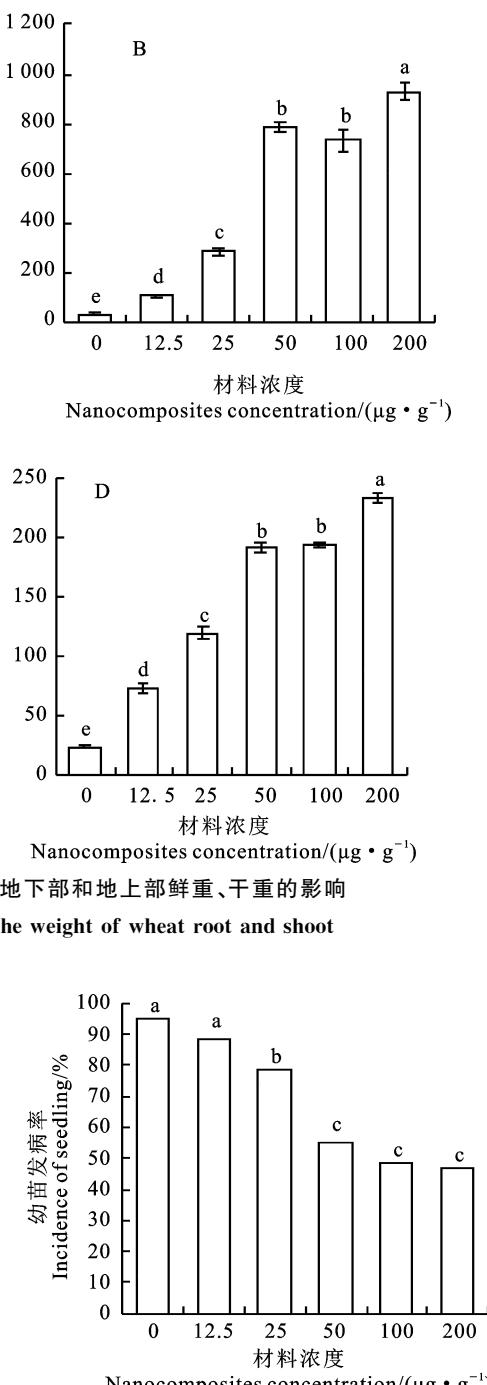


图 6 纳米 ZnO-Ag 复合材料对小麦幼苗发病率的影响

Fig. 6 Effect of ZnO-Ag nanocomposites on the incidence of wheat seedling

料处理的小麦幼苗发病率与对照组相比无显著差异($P < 0.05$),而 25、50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag 处理组均显著降低,较对照组分别降低了

16.67%、40.00%、46.67% 和 48.33%。25 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag 处理的小麦幼苗发病率显著高于 50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 材料处理组,ZnO-Ag 浓度为 50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 处理间无显著差异 ($P < 0.05$)。

3 讨论

由于病原菌的变异和对化学药剂的抗性,使得农业生产上化学药剂的施用浓度越来越高,导致植物病原菌对杀菌剂的抗性越来越强^[28]。长期下去,这种连锁效应会越来越厉害,严重威胁农作物的生产。近几年国内外研究者将纳米技术应用在植物病害防控上,为有效解决农作物病害开辟了新途径^[29]。

本研究发现,纳米 ZnO-Ag 复合材料能显著抑制小麦根腐菌菌丝的生长,抑制作用呈现剂量效应。200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ZnO-Ag 复合材料对根腐病菌菌丝生长抑制率达 91.17%,EC₅₀ 为 34.15 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。Mishra 等^[18]采用生物法合成的纳米银浓度为 10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,可抑制小麦根腐菌分生孢子的萌发;0.05 mg · mL⁻¹ 的纳米银显著抑制病菌菌丝生长,浓度为 0.1 mg · mL⁻¹ 时完全抑制病菌菌丝生长^[19]。李琴琴等^[20]制备的纳米银浓度为 10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,对小麦赤霉病菌菌丝生长抑制率达 90%。王虎军等^[30]发现,0.8 mg · mL⁻¹ 纳米 ZnO 对甜瓜致病菌粉红单端孢、镰刀菌菌丝生长抑制率分别为 77.8% 和 74.3%,当 ZnO 浓度为 2.4 mg · mL⁻¹ 时,对交链孢菌丝生长抑制率为 76.7%。Yehia 和 Ahmed^[31]研究发现,粒径为 70±15 nm 的 ZnO 纳米粒子浓度 12 mg · L⁻¹ 时,对尖孢镰刀菌和扩展青霉菌的菌丝生长抑制率分别达到 77% 和 100%。因此,在植物病害防治方面,ZnO 纳米粒子和银纳米粒子显示出良好的抗菌性能,可为植物病害防控提供新方法。

种子萌发和幼苗生长阶段是植物感知外界环境变化的敏感阶段,其生长状态直接影响植物后续的生长和发育。根腐病的发生不仅能够降低小麦种子发芽率、影响小麦幼苗生长,而且严重影响小麦的产量和品质^[32]。本研究结果表明,在土壤接种小麦根腐病菌情况下,向土壤中加入 ZnO-Ag 复合材料,小麦种子的发芽势和发芽率、小麦幼苗的根长、株高、地上部鲜重和干重、地下部鲜重和干重与对照组相比均有不同程度升高,小麦

幼苗发病率降低,这与小麦受土传病害侵染时采用生防菌处理对小麦幼苗影响一致^[33-34]。本研究结果说明,纳米 ZnO-Ag 复合材料能够抑制土壤中小麦根腐病菌生长,促进小麦种子萌发和幼苗生长,降低小麦幼苗发病率。

根系是植物吸收营养物质的主要组织,土壤中营养物质的可利用度取决于植物所处的环境。植物的根长和株高可以反应植物生长情况及适应外界环境能力,其比值是植物同化资源分配的一种表现^[35]。在逆境环境下(如干旱胁迫),植物为维持生存根系生长加快,根生物量和长度大,根冠比高^[36]。本研究结果表明,土壤接种根腐病菌情况下,随着纳米 ZnO-Ag 复合材料浓度的增加,小麦幼苗根长/株高逐渐降低。这可能是在根腐病菌侵染下,对照组小麦通过增加根的生长量抵御病菌伤害,而处理组中 ZnO-Ag 抑制了病菌生长,病菌对根生长抑制作用减弱,因而根长/株高降低。小麦幼苗根冠比随着土壤中 ZnO-Ag 处理浓度的升高呈先升高后降低趋势,这可能是病菌侵染下,小麦幼苗地上部和地下部生长都受到抑制;12.5 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ZnO-Ag 处理根冠比最高,说明此环境严重抑制小麦地上部分的生长,这可能是低浓度 ZnO-Ag 对病菌抑制作用较差,植物通过增加根的干生物量来抵御病害,高于此浓度,ZnO-Ag 对病菌抑制作用增强,病菌对植物根生长影响减小,由此生物量倾向于向地上分配,以利于植株获取地上资源,保证植物适应逆境环境。这与他人研究植物在逆境中生长,外源调节对植物生长的影响结果一致^[36-37]。

近年来,由于小麦栽培模式单一化、田间管理不善、缺乏抗病品种和播种者防病意识差等原因导致小麦根腐病害越来越严重,传统的方法已远远不能有效防治植物病害^[8],纳米抗菌技术的发展为植物病害防控注入了新活力,在植物病害防控方面发挥了积极作用^[29]。本研究中制备的纳米 ZnO-Ag 复合材料能有效抑制小麦根腐病菌生长,在小麦受到病菌侵染时,能够通过抑制病菌菌丝生长,促进小麦种子萌发和幼苗生长,降低小麦幼苗发病率,由此证明该复合材料可用于小麦根腐病害防治。纳米银粒子一般通过释放银离子破坏细菌的细胞壁和细胞膜,或者直接接触菌体使菌体内产生大量活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)等机制杀菌或抑制菌体生长^[38],但是该复合材料如何抑制小麦根腐病菌菌

丝的生长尚不清楚。另外纳米银粒子在自然界中释放对植物生长的影响,以及是否会造成生态环境污染还需进一步研究。

参考文献:

- [1] 赵广才,常旭虹,王德梅,等.小麦生产概况及其发展[J].作物杂志,2018(4):1.
- ZHAO G C, CHANG X H, WANG D M, et al. General situation and development of wheat production [J]. *Crops*, 2018 (4):1.
- [2] 刘苹,张博,齐军山,等.生物有机肥对小麦根腐病的防效及其机理初探[J].麦类作物学报,2019,39(9):1132.
- LIU P, ZHANG B, QI J S, et al. Preliminary study on control effect and mechanism of bioorganic fertilizers on wheat root [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2019, 39(9):1132.
- [3] 迟元凯,赵伟,汪涛,等.不同药剂拌种对小麦根腐病和孢囊线虫病的防效[J].植物病理学报,2018,48(5):693.
- CHI Y K, ZHAO W, WANG T, et al. Efficacy of different seed dressing agents against wheat root rot and cereal cyst nematode diseases [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2018, 48(5):693.
- [4] 侯明生,黄俊斌.农业植物病理学[M].北京:科学出版社,2014:68-70.
- HOU M S, HUANG J B. Agricultural plant pathology [M]. Beijing: Science Press, 2014:68-70.
- [5] 李可凡,袁方.小麦根腐病的发生规律及防治技术[J].河南农业科学,2003(5):58.
- LI K F, YUAN F. Occurrence regularity and control technology of wheat root rot [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2003(5):58.
- [6] 李燕,张玉凤,林海涛,等.木醋液对小麦根腐病致病菌及小麦发芽的影响[J].山东农业科学,2017,49(4):96.
- LI Y, ZHANG Y F, LIN H T, et al. Effects of wood vinegar on pathogenic bacteria of wheat root rot disease and wheat germination [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2017, 49 (4):96.
- [7] 刘正坪,王立新,李荣禧,等.小麦根腐病菌鉴定及其生物学特性测定[J].华北农学报,2002,17(2):44.
- LIU Z P, WANG L X, LI R X, et al. Identification and biological character test of wheat common rot pathogen [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2002, 17(2):44.
- [8] 李志力,王浩,石明旺.小麦根腐病防治研究进展[J].河南科技大学学报(自然科学版),2016,44(3):26.
- LI Z L, WANG H, SHI M W. Progress on studies of prevention and control of wheat root rot disease [J]. *Journal of Henan Institute of Science and Technology (Natural Science Edition)*, 2016, 44(3):26.
- [9] 孙炳剑,袁虹霞,邢小萍,等.不同种子处理剂对小麦全蚀病的防治效果[J].麦类作物学报,2008,28(4):709.
- SUN B J, YUAN H X, XING X P, et al. Control effect of different seed treatments to wheat take-all [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2018, 28(4):709.
- [10] 毕秋艳,马志强,韩秀英,等.5 种种衣剂防治小麦主要土传病害研究[J].植物保护,2014,40(4):171.
- BI Q Y, MA Z Q, HAN X Y, et al. Control effect of five kinds of seed coating formulations on soil-borne diseases in wheat [J]. *Plant Protection*, 2014, 40(4):171.
- [11] 雍太文,杨文钰,向达兵,等.不同种植模式对作物根系生长、产量及根际土壤微生物数量的影响[J].应用生态学报,2012,23(1):125.
- YONG T W, YANG W Y, XIANG D B, et al. Effects of different cropping modes on crop root growth, yield, and rhizosphere soil microbes' number [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(1):125.
- [12] CONNER R L, DUCZEK L J, KOZUB G C, et al. Influence of crop rotation on common root rot of wheat and barley [J]. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 1996, 18(3): 247.
- [13] JOSHI A K, ORTIZ-FERRARA G, CROSSA J, et al. Combining superior agronomic performance and terminal heat tolerance with resistance to spot blotch (*Bipolaris sorokiniana*) of wheat in the warm humid Gangetic Plains of South Asia [J]. *Field Crops Research*, 2007, 103(1):53.
- [14] 胡艳峰.黄淮麦区小麦根腐病菌遗传多样性分析及品种抗病性鉴定[D].郑州:河南农业大学,2016:3-7.
- HU Y F. The genetic diversity analysis on pathogen of wheat common root rot and the resistance of wheat cultivars in the Huanghuai flood plain of China [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2016:3-7.
- [15] 刘欢欢,董宁禹,柴升,等.生态炭肥防控小麦根腐病效果及对土壤健康修复机理分析[J].植物保护学报,2015,42(4):504.
- LIU H H, DONG N Y, CHAI S, et al. Effects of eco-char on controlling wheat root-rot and the mechanism of renovating soil health [J]. *Journal of Plant Protection*, 2015, 42(4): 504.
- [16] 张博,刘苹,张悦丽,等.几种生物制剂对小麦根腐病菌的毒力[J].麦类作物学报,2018,38(3):366.
- ZHANG B, LIU P, ZHANG Y L, et al. Toxicity of several biological agents to wheat root rot [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2018, 38(3):366.
- [17] AHMED S, AHMAD M, SWAMI B L, et al. A review on plants extract mediated synthesis of silver ZnO-Ag nanocomposites for antimicrobial applications: A green expertise [J]. *Journal of Advanced Research*, 2016, 7(1):17.
- [18] MISHRA S, SINGH B R, SINGH A, et al. Biofabricated silver ZnO-Ag nanocomposites act as a strong fungicide against *Bipolaris sorokiniana* causing spot blotch disease in wheat [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5):e97881.
- [19] MISHRA S, SINGH H B. Silver nanoparticles mediated altered gene expression of melanin biosynthesis genes in *Bipolaris sorokiniana* [J]. *Microbiological Research*, 2015, 172: 16.
- [20] 李琴琴,赵英虎,高莉,等.纳米银对小麦赤霉病菌的抑制

- [J]. 生物工程学报, 2017, 33(4): 620.
- [1] LI Q Q, ZHAO Y H, GAO L, et al. Inhibition of *Fusarium graminearum* by silver ZnO-Ag nanocomposites [J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2017, 33(4): 620.
- [21] ALI M, KIM B, BELFIELD K D, et al. Inhibition of *Phytophthora parasitica* and *P. capsici* by silver ZnO-Ag nanocomposites synthesized using aqueous extract of *Artemisia absinthium* [J]. *Phytopathology*, 2015, 105(9): 1183.
- [22] CHEN J N, SUN L, CHENG Y, et al. Graphene oxide-silver nanocomposite: Novel agricultural antifungal agent against *Fusarium graminearum* for crop disease prevention [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, 8(36): 24057.
- [23] ZHANG S S, ZHU W J, WANG B, et al. Secondary metabolites from the invasive *Solidago Canadensis* L. accumulation in soil and contribution to inhibition of soil pathogen *Pythium ultimum* [J]. *Applied Soil Ecology*, 2011, 48(3): 280.
- [24] AZIZI S, MOHAMAD R, RAHIM R A, et al. ZnO-Ag core shell nanocomposite formed by green method using essential oil of wild ginger and their bactericidal and cytotoxic effects [J]. *Applied Surface Science*, 2016, 384: 517.
- [25] HUANG P, LIN J, Li Z M, et al. A general strategy for metallic nanocrystals synthesis in organic medium [J]. *Chemical Communications*, 2010, 46: 4800.
- [26] CAI A J, GUO A Y, DU L Q, et al. Leaf-templated synthesis of hierarchical AgCl-Ag-ZnO composites with enhanced visible-light photocatalytic activity [J]. *Materials Research Bulletin*, 2018, 103: 225.
- [27] HUANG L J, WANG Y X, TANG J G, et al. Preparation of graphene/ silver nanohybrid composite with good surface-enhanced Raman scattering characteristics [J]. *International Journal of Electrochemical Science*, 2016, 11: 398.
- [28] IMFELD G, VUILLEUMIER S. Measuring the effects of pesticides on bacterial communities in soil: A critical review [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2012, 49: 22.
- [29] 陈娟妮, 蔡璘, 李石力, 等. 纳米技术在植物病害防控中应用的研究进展 [J]. 植物保护学报, 2019, 46(1): 142.
- CHEN J N, CAI L, LI S L, et al. Progress in application of nanotechnology on plant diseases management in agriculture [J]. *Journal of Plant Protection*, 2019, 46(1): 142.
- [30] 王虎军, 路军, 薛华丽, 等. 纳米氧化锌对甜瓜主要致病菌抑菌活性研究 [J]. 食品工业科技, 2016, 37(4): 356.
- WANG H J, LU J, XUE H L, et al. The inhibitory effects of zinc oxide nanoparticles treatment on the important pathogenic fungi causing post harvest disease in muskmelon [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(4): 356.
- [31] YEHIA R S, AHMED O F. In vitro study of the antifungal efficacy of zinc oxide nanoparticles against *Fusarium oxysporum* and *Penicillium expansum* [J]. *African Journal of Microbiology Research*, 2013, 7(19): 1917.
- [32] 高利利, 张晨, 邱琳, 等. 酸雨胁迫下镧对冬小麦种子萌发的影响 [J]. 麦类作物学报, 2008, 28(1): 129.
- GAO L L, ZHANG C, QIU L, et al. Effects of lanthanum on germination of winter wheat seeds under acid rain stress [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2008, 28(1): 129.
- [33] 姜华年, 丁婷. 厚朴内生真菌 HPFJ3 对小麦全蚀病的生防作用 [J]. 江苏农业学报, 2016, 32(2): 285.
- JIANG N H, DING T. Biocontrol effect of endophytic fungus HPFJ3 from *Magnolia officinalis* on wheat take-all disease [J]. *Jiangsu Journal of Agriculture and Science*, 2016, 32(2): 285.
- [34] 乔宏萍. 小麦内生细菌对小麦全蚀病的生物防治研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006: 32-36.
- QIAO H P. Biological control of take-all disease of wheat by endophytic bacteria [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2006: 32-36.
- [35] 陈骥, 曹军骥, 魏永林, 等. 青海湖鸟岛水分梯度下草地生物量分配格局初步研究 [J]. 干旱地区农业研究, 2014, 32(3): 202.
- CHEN J, CAO J J, WEI Y L, et al. Primary study on the allocation pattern of grassland biomass under soil water gradient of bird island in Qinghai lake [J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2014, 32(3): 202.
- [36] 王秀波, 上官周平. 干旱胁迫下氮素对不同基因型小麦根系活力和生长的调控 [J]. 麦类作物学报, 2017, 37(6): 820.
- WANG X B, SHANGGUAN Z P. Effect of nitrogen on root vigor and growth in different genotypes of wheat under drought stress [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2017, 37(6): 820.
- [37] 刘亚栋, 张长峰. SA 浸种对盐胁迫下小麦种子萌发和幼苗生长的影响 [J]. 生命科学研究, 2017, 21(3): 244.
- LIU Y D, ZHANG C F. Effects of seed pre-soaking with salicylic acid on seed germination and seedling growth of wheat under salt stress [J]. *Life Science Research*, 2017, 21(3): 244.
- [38] MARAMBIO-JONES C, HOEK E M V. A review of the antibacterial effects of silver nanomaterials and potential implications for human health and the environment [J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2010, 12(5): 1531.