

丛枝菌根真菌对黄瓜南方根结线虫病害防治效应

张淑彬, 王幼珊, 邹国元

(北京市农林科学院 植物营养与资源研究所, 北京 100097)

摘要:在温室盆栽条件下,研究了丛枝菌根真菌 *Glomus mosseae*、*Glomus intraradices* 及混合菌剂对黄瓜苗期与移栽后南方根结线虫病害的防治效应。结果表明:苗期接种 AM 真菌处理的侵染率低时,其抑制根结线虫侵染的能力也低;移栽缓苗后接种根结线虫后,接种 AM 真菌处理的黄瓜地上部干重、地下部干重、株高、植株养分吸收量均显著高于只接种南方根结线虫处理,根结指数显著低于只接种南方根结线虫处理。说明 AM 真菌确实能够通过和黄瓜根系建立共生体来防御南方根结线虫对黄瓜的危害,其中 *G. intraradices*、*G. mosseae* 菌种的促生及防治黄瓜南方根结线虫病害的作用显著。

关键词:丛枝菌根真菌;南方根结线虫;黄瓜;根结指数

中图分类号:S 436.421.2⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)19-0123-04

丛枝菌根 (Arbuscular mycorrhiza, AM) 是自然界中普遍存在的植物和真菌的互惠互利共生体,植物能够为菌根真菌提供生长需要的碳源和能量,真菌可以通过根外菌丝扩大根系吸收范围,从而提高植物根系对养分和水分的吸收,尤其对土壤磷的吸收。除了在改善植物养分吸收方面的作用外,AM 与植物病害的关系也是目前研究的重点^[1-3],其中抗根结线虫病害的研究就是一个热点方向。大部分研究结果表明,接种 AM 真菌 (*Glomus mosseae*、*Glomus versiforme*、*Glomus intraradices*) 后,菌根化植株的根部,根结线虫形成的虫瘿、虫卵及根结指数均低于未接种的植株,即菌根的形成对防治线虫病害有一定成效^[4-6]。现通过盆栽试验

的方法,从黄瓜苗期及移栽后整个生长期研究了不同丛枝菌根真菌对黄瓜南方根结线虫病害的防治效应,为 AM 真菌在生物防治技术上的应用提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2008 年在北京市农林科学院植物营养与资源研究所温室完成。供试黄瓜品种为“北京 204”;供试 AM 真菌菌种由国家自然科学基金资助的北京市农林科学院植物营养与资源研究所“丛枝菌根真菌种质资源库 (Bank of Glomales in China, BGC)”提供,菌种信息如表 1。供试线虫为南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita*),由中国农业科学院植保所彭德良教授提供;供试基质为等体积混合的沸石和河沙,经高温灭菌后使用。

1.2 试验方法

1.2.1 育苗时接种线虫 试验在黄瓜育苗时分别接种上述 3 种 AM 真菌,每穴接种 AM 真菌菌剂 4 g,不接种对照处理加入等量的灭菌菌剂和 4 mL 菌种滤液 (菌种滤液为 100 g 菌剂溶解于 1 L 去离子水中,悬浮液过滤后所得到的滤液),以保证非接种 AM 真菌处理的其它微生物区系相一致。出苗后间苗留 1 株。

第一作者简介:张淑彬(1976-),女,河北唐山人,硕士,现主要从事丛枝菌根真菌资源评价与应用研究工作。E-mail: zbinb@163.com。

责任作者:王幼珊(1964-),女,北京人,硕士,副研究员,现主要从事丛枝菌根真菌资源收集及评价与应用研究工作。E-mail: youshanwang@yahoo.com.cn。

基金项目:北京市科学技术委员会资助项目(D0706004040431);科技部科技基础条件平台建设资助项目(2005DKA21201);北京市农林科学院常规育种财政专项资助项目;北京市农林科学院科技创新能力建设专项资助项目。

收稿日期:2011-06-28

Effects of Different Factors on *in vitro* Flowering of *Petunia hybrida*

ZHAO Xiao-mei

(College of Life Science, Linyi University, Linyi, Shandong 276005)

Abstract: Tissue culture seedling of *Petunia hybrida* were used as test material, effect of different period of light with 12, 16 hours; different medium MS, 1/2MS; 1/2MS adding 0, 10, 25, 50, 100 mg/L different concentrations of aspirin on *in vitro* flowering of *Petunia hybrida* were studied. The results showed that when using medium 1/2MS with 16 hours of light, the effects of *in vitro* flowering were best; but aspirin had no significant.

Key words: *Petunia hybrida*; period of light; medium; aspirin

表 1 供试菌种信息

Table 1 Information of AM fungal isolates

菌种 AM fungal isolates	丛枝菌根真菌种质资源编号 The number of resources in BGC	国家自然资源平台资源号 The number of resources in the Portal of Chinese Science and Technology Resource
混合菌剂 Mixed inoculants	HEB200704	—
<i>Glomus mosseae</i>	BGCXJ01	1511C0001BGCAM0016
<i>Glomus intraradices</i>	BGCUSA04	—

1.2.2 苗期接种线虫 1.2.1 中的黄瓜幼苗培养至 25 d 时,一部分幼苗在其根部直接接入根结线虫每穴 250 条。处理分别为不接种 AM 真菌也不接种根结线虫和仅接种根结线虫的 2 个对照处理 MCK0 和 MCK; 以及分别接种混合菌剂、*G. mosseae*、*G. intraradices* 的 3 个接种处理,同时又接种根结线虫的处理。共计 5 个处理,每个处理重复 25 次。分别在接入线虫 0、2、4、8、16、32 d 时,取根系样品测定菌根侵染率和线虫侵染率。

1.2.3 黄瓜移栽后接种根结线虫 将另一部分黄瓜幼苗分别移栽入装有灭菌培养基质(2 kg)的塑料盆中,每盆 1 株。缓苗后将根结线虫 2 龄幼虫 5 000 条接入每盆中。处理为不接种 AM 真菌也不接种根结线虫和仅接种根结线虫的 2 个对照处理 CK0 和 CK; 分别接种混合菌剂、*G. mosseae*、*G. intraradices* 的 3 个接种 AM,同时又接种根结线虫的处理。共计 5 个处理,每个处理重复 4 次,随机摆放。每盆每隔 10 d 浇 Hoagland 营养液 100 mL,其它按常规管理。在此盆栽条件下,黄瓜在温室培养 60 d 收获。测定植株干重及植株中的氮(凯氏法)、磷(钒钼黄比色)含量,菌根侵染率,根结指数。

1.3 测定方法

菌根侵染率采用墨水醋酸染色法^[7],按 Trouvelot A 等^[8]方法计算菌根侵染率。线虫侵染率采用次氯酸钠-酸性品红染色法^[9],测定根系中线虫侵染率。根结指数采用翟衡^[10]的方法。

1.4 数据分析

试验数据采用 SAS 软件统计分析,LSD 多重比较,5%水平下检验各处理平均值的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 苗期接种根结线虫后对 AM 真菌在黄瓜根系侵染率的影响

从表 2 可看出,未接种 AM 真菌对照处理的菌根侵染率均为 0,说明育苗试验条件未出现不同 AM 真菌间的互相干扰侵染。在接种根结线虫前接种 AM 真菌各处理的菌根侵染率有明显差异,其中接种 *G. intraradices* 的处理显著高于另外 2 种菌种处理(表 3),这说明不同 AM 真菌在侵染黄瓜根系时,出现了侵染快慢之分。接种根结线虫后,不同时期中接种 *G. intraradices* 和 *G. mosseae* 的处理菌根侵染率均达到

90%以上,说明接种根结线虫并没有影响这 2 种 AM 真菌在黄瓜根部的侵染。接种 AM 真菌混合菌种的处理,接种根结线虫后 4 d 时,其菌根侵染率明显下降,在 16 d 后,才达到 90%以上,表明接种根结线虫明显影响了混合菌种在根系中的侵染。

表 2 苗期接种根结线虫后 AM 真菌在黄瓜根系的侵染率

Table 2 Colonization of the different AM fungi in the cucumber root after inoculated with *M. incognita* on the seeding stage

接种处理 Inoculation treatment	接种根结线虫后天数 Days after inoculating <i>M. incognita</i> /d					
	0	2	4	8	16	32
MCK0	0a	0a	0a	0a	0a	0a
MCK	0a	0a	0a	0a	0a	0a
<i>G. mosseae</i>	58.3b	80.6a	93.2a	94.7a	98.3a	99.5a
<i>G. intraradices</i>	88.3b	92.6a	96.5a	99.0a	99.0a	98.4a
混合菌种 Mixed inoculants	33.3c	59.6b	7.5d	59.1b	95.5a	97.0a

注:应用 LSD 法检验处理间差异程度,同一横栏中的不同字母表示差异达到 5%显著水平,下同。

Note: The LSD method was used to test the significance of difference, mean values followed the same letters in a level are not significantly different at $P < 0.05$, the same below.

2.2 苗期接种根结线虫后根结线虫在黄瓜根系的侵染率

从图 1 可看出,未接种根结线虫的对照处理 MCK0 的线虫侵染率均为 0,说明该育苗试验条件下未出现根结线虫在各处理间的污染。接种根结线虫后,仅接种根结线虫的 MCK 对照处理的根结线虫侵染率随着培养时间的延长侵染率呈增加趋势;而接种混合菌种处理的根结线虫侵染率在接种根结线虫后 4 d 时达到最高值,随后呈递减趋势;接种 *G. intraradices* 和 *G. mosseae* 处理的根结线虫侵染率均较低。表明接种 AM 真菌能够抑制根结线虫在黄瓜根系中的侵染,而且不同的菌种可能抑制的方式不同,*G. intraradices* 和 *G. mosseae* 可能直接抑制根结线虫进入黄瓜根系,混合菌种则可能通过抑制根结线虫在根内的活动而影响其侵染。

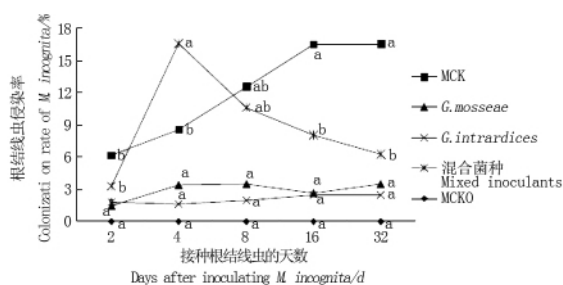


图 1 接种 AM 真菌对根结线虫侵染率的影响

Fig. 1 Effect of the different AM fungi on colonization rate of *M. incognita*

2.3 移栽后接种 AM 真菌和根结线虫对黄瓜植株生长发育的影响

在移栽后 60 d 时,不同 AM 真菌接种处理的菌根

侵染差异不明显(表 3),但均达到了 70%以上,说明不同 AM 真菌均与黄瓜根系建立了良好的共生关系。从表 3 可看出,只接种根结线虫而未接种 AM 真菌的处理,其株高、地上部、地下部干重均低于对照 CK0,并且除地下部干重外,其它各指标均达到了显著差异,表明在该试验条件下,接种根结线虫对黄瓜植株生长造成了一定危害。接种 AM 真菌处理的 3 个指标都高于只接种根结线虫的处理。表明 AM 真菌能够减轻根结线虫对黄瓜植株造成的危害。此外,接种 *G. intraradices* 和 *G. mosseae* 处理的地上部干重和地下部干重均显著高于混合菌剂处理。

2.4 移栽后接种 AM 真菌和根结线虫对黄瓜植株养分吸收量的影响

接种 AM 真菌的所有处理植株吸收氮、磷、钾的量显著高于只接种根结线虫处理,而且未接种 AM 真菌也未接种根结线虫的对照处理植株吸收氮、磷、钾的量也显著高于只接种根结线虫处理(表 4),说明该试验条件下,根结线虫对黄瓜根系养分的吸收抑制严重,影响了植株生长,而接种 AM 真菌能够显著增强黄瓜根系对养分的吸收能力,改善黄瓜根结线虫的危害。不同 AM 真菌处理间的黄瓜植株养分吸收量没有显著差异。

表 3 接种 AM 真菌和根结线虫对黄瓜生物量和株高的影响

Table 3 Effect of the different AM fungi and *M. incognita* on biomass and height of plant of the cucumber plants

接种处理 Inoculation treatment	侵染率 Colonization rate/%	地上部干重 Shoot dry weight/g	地下部干重 Root dry weight/g	株高 Height of plant/m
CK0	0 c	9.87 c	1.15 cd	2.39 b
CK	0 c	5.00 d	0.70 d	1.61 c
混合菌剂 Mixed inoculants	82.7 a	10.06 c	1.96 bc	2.54 ab
<i>G. mosseae</i>	71.5 b	11.89 ab	5.36 a	2.75 a
<i>G. intraradices</i>	89.2 a	13.01 a	2.52 b	2.62 a

表 4 接种 AM 真菌和根结线虫对黄瓜植株氮、磷、钾吸收量的影响

Table 4 Effect of the different AM fungi and *M. incognita* on N,P,K uptake of the cucumber plants mg/盆

接种处理 Inoculation treatment	吸氮量 N uptake	吸磷量 P uptake	吸钾量 K uptake
CK0	285.22 ab	22.93b	239.78 b
CK	184.49 c	10.63 c	97.02 c
混合菌剂 Mixed inoculants	246.21 b	29.12ab	250.63 ab
<i>G. mosseae</i>	283.11 ab	28.72ab	300.24 a
<i>G. intraradices</i>	306.85 a	30.10a	288.32 ab

2.5 移栽后接种 AM 真菌对黄瓜根结指数的影响

从图 2 可看出,3 个接种 AM 真菌处理的黄瓜根结指数均低于只接种根结线虫处理,且差异显著。表明接种 AM 真菌能够明显抑制根结线虫对黄瓜根系的

危害,起到了一定的防治效果。接种 AM 真菌处理间的根结指数差异不显著。

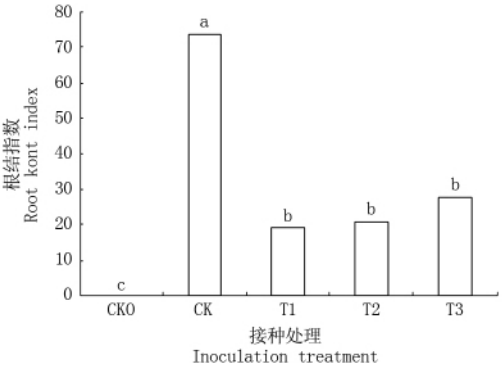


图 2 接种 AM 真菌对黄瓜根结指数的影响
Fig. 2 Effect of the different AM fungi and *M. incognita* on root knot index of the cucumber

注:CK0—不接种 AM 真菌,也不接种根结线虫处理;CK—接种根结线虫、不接种 AM 真菌;T1—接种混合菌剂和根结线虫;T2—接种 *G. mosseae* 和根结线虫;T3—接种 *G. intraradices* 和根结线虫。
Note: CK0—No Meloidogyne, no mycorrhiza; CK—Meloidogyne, no mycorrhiza; T1—The mixed inocula and Meloidogyne; T2—*G. mosseae* and Meloidogyne; T3—*G. intraradices* and Meloidogyne.

3 讨论与结论

该试验中接种 AM 真菌显著抑制了根结线虫对黄瓜幼苗的侵染,而且侵染率高时,其抑制效果也强,即其根结线虫的侵染率高;接种 AM 真菌也显著抑制了移栽后黄瓜根系根结的发生。原因可能在于 AM 真菌在根上侵染扩展的部位相同于南方根结线虫占据的部位,因此存在空间竞争,此外二者也可能存在着养分竞争^[11];也有可能是因为形成菌根后,一些线虫不喜欢取食这类根系,由于菌根的发育常常改变植物分泌物的种类和数量,这些变化有可能改变线虫对根系的趋化性,影响线虫的孵化或在根组织内直接抑制线虫的生理活动^[12];还有一种可能是因为 AM 真菌侵染宿主根系后激起了宿主的防御反应,提高了抗病性相关酶活性,从而使宿主植物对病原物的再次进攻产生敏感反应,从而提高抗病性^[13]。

移栽后接种根结线虫的所有处理与对照相比,接种根结线虫明显抑制了黄瓜的生长和养分的吸收,而同时接种 AM 真菌和根结线虫处理的黄瓜生物量、株高、养分吸收量均显著高于只接种根结线虫处理,接种 AM 真菌明显改善了根结线虫对黄瓜的危害。李晓林等^[14]研究认为,丛枝菌根真菌与宿主植物根系结合形成菌根后,其根外菌丝在土壤中的延伸生长增加了根系与土壤接触的范围和表面积,从而扩大了菌根的吸收范围,增强了植株对土壤养分及水分(尤其是磷)的吸收,因此促进植株的生长。另外,磷能加强光合作用和碳水化合物的合成与运转,有助于植株体内可溶性糖类的积累(特别是在逆境条件下),从而提高宿主植物的抗逆性^[15]。正是因为 AM 真菌的这些作用,接种

AM 真菌确实一定程度上减轻了根结线虫对黄瓜的危害。

侵染率是鉴定菌根共生体形成的直观指标,它也反映真菌与植物亲和力的高低,但不能反映菌根效应的大小^[14]。试验中苗期接种 AM 后 25 d 时,混合菌种的侵染率显著低于另外 2 种接种处理。这可能是因为每种(株)真菌的生物学特性不同以及环境条件影响的真菌发育滞缓期也不同,真菌发育滞缓期越短,侵染速度越快^[16]。但移栽培养 60 d 后,3 种 AM 真菌的侵染率均在 70% 以上。有研究证明,先接种 AM 真菌后接种根结线虫具有较强的提高宿主植物的生长发育,增强光合作用能力及抑制线虫繁殖体数量的作用,而同时接种 AM 真菌和根结线虫在这几方面表现较差^[13]。

由此可见,AM 真菌确实能够通过和黄瓜根系建立共生体来防御根结线虫对黄瓜的危害,但不同菌种(株)之间的防御能力有很大的不同,可能是因为受到宿主植物的种类、基因类型、不同植物根结线虫种类以及环境因素的影响,出现了不同种 AM 对同一宿主植物根结线虫危害表现出不同的结果,这就要求在今后的试验中有针对的筛选 AM 真菌和不同作物间的组合,达到有效利用 AM 真菌抗线虫的目的。

(致谢:该试验所用根结线虫由中国农业科学院植保所彭德良教授提供,谨表诚挚谢意。)

参考文献

- [1] 李敏,刘润进,李晓林. 大田条件下丛枝菌根真菌对西瓜生长和枯萎病的影响[J]. 植物病理学报,2004,34(5):472-473.
- [2] 王倡宪,李晓林,秦岭,等. 利用丛枝菌根真菌提高植物抗病性的

研究进展[J]. 中国生物防治,2007,23(增刊):64-69.

- [3] Akhtar M S, Siddiqui Z A. Arbuscular Mycorrhizal Fungi as Potential Bioprotectants Against Plant Pathogens [C]. Mycorrhizae: Sustainable Agriculture and Forestry, Springer Netherlands, Germany, 2008:61-97.
- [4] 王艳玲,胡正嘉. VA 菌根真菌对番茄线虫病的影响[J]. 华中农业大学学报,2000,19(1):25-28.
- [5] Zhang L D, Zhang J L, Peter Christie, et al. Pre-inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi suppresses root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on cucumber (*Cucumis sativus*) [J]. Biol Fertil Soils, 2008(45): 205-211.
- [6] 焦惠,戴梅,李岩,等. PGPR 接种时期和 AM 真菌对番茄根结线虫病的影响[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版),2010,27(3):177-181.
- [7] Vierheilig H, Coughlan A P, Urs Wyss, et al. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998,64(12):5004-5007.
- [8] Trouvelot A, Kough J L, Gianinazzi Pearson V. Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae[M]. Paris:INRA Press,1986:217-221.
- [9] 刘维志. 植物线虫学研究技术[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,1995:71-72.
- [10] 翟衡,管雪强,赵春芝,等. 中国葡萄抗南方根结线虫野生资源的筛选[J]. 园艺学报,2000,27(1):27-34.
- [11] 李海燕,刘润进,束怀瑞. 丛枝菌根真菌提高植物抗病性的作用机制[J]. 菌物系统,2001,20(3):435-439.
- [12] 蒋家慧,姜德峰,张玉娜. AM 菌与植物病原线虫的相互作用研究进展[J]. 莱阳农学院学报,1996,13(4):271-276.
- [13] 李海燕,刘润进,束怀瑞. 丛枝菌根真菌与葡萄南方根结线虫的相互作用及其对寄主的影响[J]. 园艺学报,2002,29(6):510-514.
- [14] 李晓林,冯固. 丛枝菌根真菌的生态生理[M]. 北京:华夏出版社,2001:34-39.
- [15] 郭衍银,徐坤,王秀峰,等. 矿质营养与植物病害机理研究进展[J]. 甘肃农业大学学报,2003,38(4):385-393.
- [16] 李扬. 丛枝菌根真菌孢子萌发及牙管菌丝发育研究[D]. 武汉:华中农业大学,2007.

Effect of Arbuscular Mycorrhizal(AM)Fungi Suppresses Root Knot Nematode on Cucumber

ZHANG Shu-bin, WANG You-shan, ZOU Guo-yuan

(The Institute of Plant Nutrition and Resource, Beijing Academy of Agriculture and Forest Science, Beijing 100097)

Abstract: A pot experiment was conducted to evaluate the influence of Arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus mosseae*, *Glomus intraradices*, and the mixed inocula on the root knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on the young seedling and transplant seedling of cucumber. The results showed that the mixed inocula could not restrain the root knot to colonize the root of the young seedling when the colonization rate of the AM fungi was lower. After the seedling of cucumber transplanted, the three AM fungi tested significantly reduced the root knot index, and increased shoot dry weight, root dry weight, height of plant, and nutrient uptake. It was showed that AM fungi can restrain the disease of the root knot nematode on the cucumber by the mycorrhizal symbiont. *G. intraradices*, *G. mosseae* were more effective than others at increasing plant growth, nutrient uptake, and the suppression of the root knot nematode.

Key words: Arbuscular mycorrhizal fungi; *Meloidogyne incognita*; cucumber; root knot index