

AM 真菌对连作西瓜生长及其枯萎病的影响

韩亚楠^{1,2}, 毕美光³, 刘润进¹, 李敏^{1,2}

(1. 青岛农业大学 菌根生物技术研究所, 山东 青岛 266109; 2. 青岛农业大学 园艺学院, 山东 青岛 266109;

3. 中国农业大学 烟台研究院, 山东 烟台 264670)

摘要:以中抗枯萎病西瓜品种“京欣1号”为试材,在温室栽培条件下,针对3种不同连作年限(3、7、12 a)的土壤,研究了接种丛枝菌根(AM)真菌对连作西瓜生长和枯萎病的影响。结果表明:接种 AM 真菌能显著提高西瓜根系菌根侵染率,且随着连作年限的增加,AM 真菌侵染率逐渐降低;同时接种 AM 真菌均能提高不同连作年限处理西瓜植株的生物量,其中对连作 3 a 的处理增加效果最显著;虽然 AM 真菌不能防止连作西瓜枯萎病害的发生,但对其具有一定的防治效果,并且连作年限越短,AM 真菌的防治效果越好。

关键词:丛枝菌根真菌;西瓜;设施;连作;枯萎病

中图分类号:S 651 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)13-0150-04

我国西瓜[*Citrullus lanatus* (Thunb) Mansf.]播种面积已跻身为世界第一,成为重要的西瓜生产大国,2011年播种面积为 180.32 万 hm²,仅山东省播种面积达 20.35 万 hm²^[1],其中昌乐、青州等西瓜主产区以设施栽培为主。西瓜由传统的季节性消费品逐渐转变成营养型食品,且消费时间明显延长。由于规模化生产基地的快速发展,而设施栽培由于受设施限制不能年年移动,设施西瓜栽培不可避免的采取连作方式。然而西瓜多年连作,会导致地力衰退,研究发现随着西瓜种植年限的增加,土壤中细菌、放线菌呈现先升后降趋势;真菌数量变化趋势则与之相反;蛋白酶、多酚氧化酶也同样呈现先升后降趋势,脲酶呈下降趋势;土壤中速效钾和速效磷的含量随着连作年限的增加出现少量积累,土壤酸化日趋严重^[2],病虫害加剧,导致其产量降低,品质下降,产生连作障碍^[3]。

已有研究表明,丛枝菌根(Arbuscular mycorrhizae, 简称 AM)真菌能减轻病原物对作物的危害,提高作物的抗/耐病性^[4-6],改善植物营养水平,促进作物生长,提高产量,改善品质^[7]。AM 真菌 *Glomus mosseae* 和 *Glomus versiforme* 能显著降低西瓜根围内镰刀菌的数量和镰刀

菌枯萎病的病程指数^[8-9]。目前 AM 真菌在西瓜病害上的研究,主要集中在大田和盆栽人工接种病原菌条件下 AM 真菌的抗/耐病等方面^[8-9],而对设施栽培连作条件下,AM 真菌对西瓜生长发育的影响报道较少。Zhao 等^[10]研究了 AM 真菌对连作西瓜土壤微生物区系和土壤酶活性的影响。通过盆栽连作土壤条件,研究了 AM 真菌对西瓜生长、产量及枯萎病的影响,以期利用 AM 真菌进一步解决西瓜连作问题,提供可行性的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试西瓜品种为中抗枯萎病品种“京欣1号”,为山东省昌乐县尧沟镇大棚主栽品种,将西瓜种子用 75%酒精消毒后浸种 12 h,放在垫有滤纸的培养皿中,置于恒温培养箱中,于 28~30℃下催芽,出芽后播种。

供试 AM 真菌菌剂为地表球囊霉(*Glomus versiforme* Berch)由青岛农业大学菌根生物技术研究所提供,在以往的研究中发现其对西瓜生长有较好的效果^[8]。菌种是经三叶草在灭菌沙土中扩繁 4~5 个月,以菌根化根段、土壤中的菌丝体和根围土壤组成的接种混合物。每 100 g 菌剂约含 600 个真菌孢子。

盆栽用土试验所用土壤采自山东省昌乐县尧沟镇西瓜种植大棚,连作年限分别为 3、7、12 a 的西瓜嫁接重茬土。试验所用花盆(25 cm×30 cm)及育苗穴盘及育苗基质(草炭:蛭石=1:1)均用甲醛熏蒸灭菌备用。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 试验在日光温室内进行,所用土壤分为连作年限 3、7 和 12 a 的西瓜嫁接重茬土,每份土样分

第一作者简介:韩亚楠(1990-),女,山东济宁人,硕士研究生,现主要从事蔬菜生理生态等研究工作。

责任作者:李敏(1964-),女,山东龙口人,博士,教授,现主要从事蔬菜栽培生理等研究工作。E-mail:minli@qau.edu.cn.

基金项目:国家“十二五”科技支撑计划资助项目(2011BAD12B03-05);国家自然科学基金资助项目(31240085);青岛农业大学高层次人才基金资助项目(630603)。

收稿日期:2013-03-04

设接种 AM 真菌和不接种 AM 真菌 2 个处理,即土壤(3)×AM 真菌(2)共 6 个处理,每个处理重复 50 盆,共 300 盆,各处理间栽培管理条件一致,随机排列。

1.2.2 接种与播种 将 AM 真菌接种物 30 mL(约 5 000 接种单位)^[11],分别放入育苗穴盘内,对照则加入等量的灭菌混合接种物和接种物滤液,并与钵中草炭土混匀。于 2010 年 4 月 2 日在日光温室内播种,播种后自然光照,温度约为 26℃/15℃(昼/夜),于 5 月 9 日幼苗 3 片真叶充分展开时定植到不同连作年限的土壤中,随机排列。每 2 d 浇 1 次水,每 2 周浇 1 次 30% 的无磷 Hoagland 营养液。

1.3 项目测定

菌根侵染率的测定:定植后 2 周测定各处理间菌根的侵染率。取新鲜的根样,用自来水冲洗干净,切成 0.5~1.0 cm 的小段,放入试管中,用 10% KOH 溶液透明处理 20 min,清水冲洗 3 次后,再用 2% HCl 酸化 5 min,去酸液后,加入 0.1% 酸性品红-乳酸甘油染色。于 Olympus(BX51,日本)显微镜下观察测定 AM 真菌侵染状况^[12],计算菌根侵染率。菌根侵染率=Σ(0%×根段数+10%×根段数+20%×根段数+……100%×根段数)/总根段数。

植株生长指标的测定:定植后 4 周测定各处理植株的生长状况。分别测定植株鲜重、地上部干重、叶片数、茎粗、蔓长等指标。定植后 30 d 测定西瓜枯萎病发生情况。

植株病情指数的测定:西瓜枯萎病成株期病情分级标准如下^[13]:0 级:生长正常;1 级:叶片或茎蔓由下而上萎蔫,萎蔫面积占全株的 1/4 或 1/4 以下;2 级:叶片或茎蔓由下而上萎蔫,萎蔫面积占全株的 1/4~1/2,茎蔓上有琥珀色胶状物;3 级:叶片或茎蔓由下而上萎蔫,萎蔫面积占全株的 1/2 以上,茎蔓上有琥珀色胶状物,节间变短,下部病茎表面产生白色或粉红色霉层;4 级:全株萎蔫死亡。分别以下式计算病情指数,发病率和防治效果,病情指数=Σ(级数×该级数发病株数)/(总调查株数×最高级数)×100%,发病率(%)=发病株数/调查株数×100%,防治效果(%)=(对照的病情指数-接种 AM 真菌的病情指数)/对照的病情指数×100%。

1.4 数据分析

试验数据采用 DPS 7.01 软件进行方差分析,最少显著差数(LSD)法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 设施连作栽培对西瓜根系菌根发育的影响

由图 1 可知,设施栽培条件下,接种 AM 真菌均能有效地侵染西瓜根系,不同连作年限的土壤中 AM 真菌的发育情况存在差异,连作 3、7、12 a 的菌根侵染率分别为 61.5%、55.0%和 46.1%。随着连作年限的增加,AM

真菌的侵染能力有所减弱,AM 真菌对连作 3 a 土壤中西瓜根系的侵染率显著高于连作 7 a 和 12 a 的土壤。由于自然采集的土壤中存在土著 AM 真菌,因此,不同连作年限的土壤,未接种的处理西瓜根系也有少部分被侵染,并且与接种 AM 真菌的处理表现出了相同的趋势,连作 3 a 土壤中的西瓜根系菌根侵染率显著高于连作 7 a 和 12 a 的土壤。

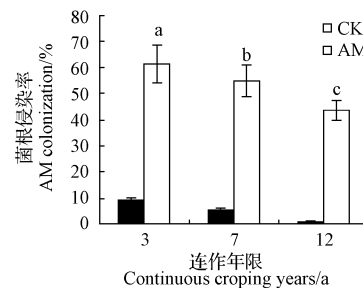


图 1 连作栽培条件下 AM 真菌的侵染率

注:不同小写字母表示 $P < 0.05$ 差异显著;AM:接种 AM 真菌。

下同。

Fig. 1 AM colonization rates of watermelon grown in continuous cropping soils

Note: Different little letters in columns mean significant difference at $P < 0.05$ level. AM: Inoculating AM fungus. The same as below.

2.2 AM 真菌对连作西瓜生长的影响

由表 1 可知,在西瓜定植后 4 周,不论连作年限的长短,接种 AM 真菌均能有效促进西瓜生长发育。同一连作年限的处理,接种 AM 真菌的植株地上部鲜重、干重、茎粗、蔓长和单株叶片数均不同程度高于不接种的对照。其中在 0.05 水平上,地上部鲜重和干重接种 AM 真菌与不接种相比差异显著,说明 AM 真菌能有效提高连作土壤条件下西瓜的地上部分产量。而不同连作年限土壤的处理,AM 真菌的增产效应也不尽相同。就地上部分鲜重而言,连作 3、7 和 12 a 的土壤,AM 真菌均表现出了显著的增产效应,分别为各自对照的 2.26 倍、2.02 倍和 2.20 倍。而 AM 真菌对西瓜植株的蔓长的促进作用,在连作 12 a 的土壤水平上达到了显著水平。说明 AM 真菌能有效增加连作条件下西瓜的生物

表 1 AM 真菌对连作西瓜生长的影响

Table 1 Effect of AM fungi on seedlings growth of watermelon grown in continuous cropping soils

处理 Treatments		单株	茎粗	蔓长	地上鲜重	地上干重
连作年限	接种 AM 真菌	叶片数	Stem	Seedling	Fresh	Dry weight
Continuous	Inoculated	Leaves	diameter	length	weight	weight
cropping years/a	AM fungus	per plant	/cm	/cm	/g·盆 ⁻¹	/g·盆 ⁻¹
3	CK	10 bc	0.38 d	32.2 cd	4.06 bc	0.86 bc
	AM	13 a	0.46 ab	34.7 c	9.18 a	1.82 a
7	CK	8 c	0.40 bcd	23.1 e	3.04 c	0.58 c
	AM	11 b	0.47 a	30.6 cde	6.14 a	1.30 a
12	CK	9 c	0.39 d	25.7 e	2.96 c	0.57 c
	AM	11 b	0.45 ab	32.9 cd	6.52 b	1.38 a

产量,其中,在连作 12 a 的土壤中,AM 真菌对西瓜生物产量的影响最为显著。

2.3 AM 真菌对连作西瓜枯萎病的影响

由表 2 可知,同一连作年限的处理,接种 AM 真菌与未接种的处理均有枯萎病的发生,但接种 AM 真菌的处理其发病率和病情指数均有所降低,存在着显著差异。各连作年限的土壤中,接种 AM 真菌的处理发病率分别比各自不接种对照有不同程度的降低,西瓜枯萎病病情指数分别显著低于各自的对照,说明接种 AM 真菌仅能在一定程度上减轻西瓜枯萎病病害的发生。不同连作年限的土壤相比,接种 AM 真菌对连作 3 a 的土壤枯萎病防治效果最为明显,达到了 30.4%,连作 7 a 的处理次之,为 18.3%,连作 12 a 的处理防效最差。可见在不同连作年限与 AM 真菌的组合中,AM 真菌对枯萎病的防治效果存在差异。试验过程中同时发现,接种 AM 真菌有效的延缓了枯萎病的发病时期,不接种 AM 真菌的处理,枯萎病病症出现的较早,对西瓜的生长发育影响较大。

表 2 AM 真菌对连作西瓜枯萎病的影响

Table 2 Effect of AM fungus on *Fusarium* wilt of watermelon grown in continuous cropping soils

处理 Treatments		发病率 Disease incidence /%	病情指数 Disease index	防治效果 Control effect /%
连作年限 Continuous cropping years/a	接种 AM 真菌 Inoculated AM fungus			
3	CK	87.0 c	39.6 d	—
	AM	71.0 d	27.5 e	30.4 a
7	CK	96.2 b	90.4 a	—
	AM	93.2 b	73.8 c	18.3 b
12	CK	100.0 a	84.0 b	—
	AM	100.0 a	72.0 c	14.3 b

3 结论与讨论

该试验结果表明,接种 AM 真菌能显著增加西瓜根系的菌根侵染率,而由于采集的连作土壤中存在土著 AM 真菌的孢子和菌丝,使它们同样可以侵染西瓜根系;不同连作年限的土壤,接种 AM 真菌后侵染率不尽相同,随着连作年限的增加,AM 真菌的侵染率逐渐降低,对枯萎病的防效降低。一方面是土著的 AM 真菌的存在会影响接种 AM 真菌的侵染效果,二者之间或许存在着竞争,或许是协同作用^[14];另一方面随着连作年限的增加,土壤微生物的数量增加,而且区系发生了变化^[2],土传病原微生物逐年增多,对 AM 真菌的侵染存在着竞争作用^[8]。AM 真菌、土传病原菌和植物寄生线虫都会同样的占据根系的位点,因此如果它们的侵染同时发生,必然会直接的竞争侵染位点^[15-16]。当 AM 真菌和病原菌侵染同一部分寄主组织,尽管他们通常会发生在不同的皮层细胞中,但同样引起空间的竞争^[17-18]。而西瓜连作导致土壤微生物区系发生改变,真菌的数量显著增

加,其中包括镰刀菌的病原菌。此外连作土壤中,残留着大量的自毒物质,并且随着连作年限的增加,这种自毒作用逐渐突显。而根系分泌物对菌丝的生长和菌根侵染率有一定的抑制作用^[19-20],从而影响了各处理间的菌根侵染率。另外,连作年限长的土壤中有效磷的浓度较高^[21],也会在一定程度上影响菌根的发育。AM 真菌的根外菌丝对土壤养分和水分具有强大的吸收能力,能够改善寄主植物的营养状况和水分状况^[22],尤其是提高组织中磷的含量^[22-23],而含磷量的增加,有助于保持细胞膜系统的稳定性。该研究结果表明,在不同连作年限的土壤中,接种 AM 真菌均能提高植株的生物产量。这是由于设施栽培条件下,肥料施用量较大,随着连作年限的增加,土壤中沉积的速效钾和速效磷的含量不断增加,而磷在土壤中的移动性较差,但 AM 真菌的菌丝可以伸展到距根系更远的土壤中,大大扩展了植物根系的吸收范围,也引起了土壤有机磷的矿化,增加了土壤的供磷强度^[24-25],提高了肥料磷和土壤磷的利用率。通过增加寄主植物对土壤磷的吸收和利用,改善植物磷营养而促进其生长发育^[26],而植物磷素营养的改善促进了土壤氮素和钾的吸收,平衡了植株生长的营养,从而提高土壤中有效养分的利用率。

AM 真菌能抑制部分病原真菌、细菌和线虫的生长和活动,提高一些作物对土传病害的抗、耐病性^[5,27]。该试验表明,AM 真菌虽然不能避免西瓜枯萎病害的发生,但对连作西瓜枯萎病具有一定的防治效果,并且连作年限越短,AM 真菌的防治效果越好,主要是由于不同连作年限土壤中的养分存在差异。

参考文献

- [1] 中华人民共和国农业部. 中国农业统计资料(2011)[M]. 北京:中国农业出版社,2012.
- [2] 赵萌,李敏,王森淼,等. 西瓜连作对土壤主要微生物类群和土壤酶活性的影响[J]. 微生物学通报,2008,35(8):1251-1254.
- [3] 喻景权,杜尧舜. 蔬菜设施栽培可持续发展中的连作障碍问题[J]. 沈阳农业大学学报,2000,31(1):124-126.
- [4] 孙吉庆,刘润进,李敏. 丛枝菌根真菌提高植物抗逆性的效应及其机制研究进展[J]. 植物生理学报,2012,48(9):845-852.
- [5] Jung S C, Martinez-Medina A, Lopez-Raez J A, et al. Mycorrhiza-induced resistance and priming of plant defenses[J]. Journal of Chemical Ecology,2012,38:651-664.
- [6] Vos C, Claerhout S, Mkandawire R, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi reduce root-knot nemato de-penetration through altered root exudation of their host[J]. Plant and Soil,2012,354:335-345.
- [7] 王锐竹,贺超兴,王怀松,等. 丛枝菌根真菌对不同甜瓜品种产量及营养品质的影响[J]. 园艺学报,2010,37(11):1767-1774.
- [8] 李敏,刘润进,赵洪海. AM 真菌与西瓜枯萎病关系初探[J]. 植物病理学报,2000,30(4):327-331.
- [9] 李敏,王维华,刘润进,等. 大田条件下丛枝菌根菌对西瓜枯萎病的影响[J]. 植物病理学报,2004,34(4):472-473.
- [10] Zhao M, Li M, Liu R J. Effects of arbuscular mycorrhizae on microbial

- population and enzyme activity in replant soil used for watermelon production [J]. International Journal of Engineering, Science and Technology, 2010, 2: 17-22.
- [11] Liu R J, Luo X S. A new method to quantify the inoculum potential of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. New Phytologist, 1994, 128: 89-92.
- [12] 刘润进, 陈应龙. 菌根学[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [13] 李敏. AM真菌对西瓜抗枯萎病的效应及其机制[D]. 北京: 中国农业大学, 2005: 31.
- [14] 刘文科. 丛枝菌根真菌的土壤生态适应性及其功能差异研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [15] Lucy A, Christine A. The potential role of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in the bioprotection of plants against soil-borne pathogens in organic and/or other sustainable farming systems [J]. Pest Management Science, 2004, 60: 149-157.
- [16] Azcón-Aguilar C, Barea J M. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens-an overview of the mechanisms involved [J]. Mycorrhiza, 1996(6): 457-464.
- [17] Cordier C, Gianinazzi S, Gianinazzi-Pearson V. Colonisation patterns of root tissues by *Phytophthora nicotianae* var *parasitica* related to reduced diseases in mycorrhizal tomato[J]. Plant and Soil, 1996, 185: 223-232.
- [18] Vigo C, Norman J R, Hooker J E. Biocontrol of the pathogen *Phytophthora parasitica* by arbuscular mycorrhizal fungi is a consequence of effects on infection loci [J]. Plant Pathology, 2000, 49: 509-514.
- [19] Pinior A, Wyss U, Piché Y, et al. Plants colonized by AM fungi regulate further root colonization by AM fungi through altered root exudation[J]. Canadian Journal of Botany, 1999, 77: 891-897.
- [20] Vierheilig H, Lerat S, Piché Y. Systemic inhibition of arbuscular mycorrhiza development by root exudates of cucumber plants colonized by *Glomus mosseae* [J]. Mycorrhiza, 2003(13): 167-170.
- [21] Zhu X C, Song F B, Liu S Q, et al. Arbuscular mycorrhizae improves photosynthesis and water status of *Zea mays* L. under drought stress[J]. Plant Soil and Environment, 2012, 58: 186-191.
- [22] Cruz C, Green J J, Watson C A, et al. Functional aspects of root architecture and mycorrhizal inoculation with respect to nutrient uptake capacity [J]. Mycorrhiza, 2004(14): 177-184.
- [23] Wu S C, Cao Z H, Li Z G, et al. Effects of biofertilizer containing N-fixers, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial[J]. Geoderma, 2005, 125: 155-156.
- [24] 冯固, 白灯莎, 杨茂秋, 等. 不同生态型摩西球囊菌菌株对棉花耐盐性的影响[J]. 生态学报, 2001, 21(2): 259-264.
- [25] Richardson A E, Lynch J P, Ryan P R. Plant and microbial strategies to improve the phosphorus efficiency of agriculture[J]. Plant and Soil, 2011, 349: 121-156.
- [26] Bucking H, Shachar-Hill Y. Phosphate uptake, transport and transfer by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is stimulated by increased carbohydrate availability[J]. New Phytologist, 2005, 165: 899-912.
- [27] 王小坤, 郭绍霞, 李敏, 等. 丛枝菌根真菌提高植物抗病性的分子机制[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2012, 29(3): 170-175.

Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungus on Growth and *Fusarium* Wilt of Watermelon Seedlings in Continuous Cropping Soils

HAN Ya-nan^{1,2}, BI Mei-guang³, LIU Run-jin¹, LI Min^{1,2}

(1. Institute of Mycorrhizal Biotechnology, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109; 2. College of Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109; 3. Institute of Yantai Research, China Agricultural University, Yantai, Shandong 264670)

Abstract: Taking watermelon *Fusarium* wilt middle resistant cultivar 'Jingxin No. 1' as material, the effect of inoculating arbuscular mycorrhizal fungus on the growth and *Fusarium* wilt of continuous cropping watermelon were studied in soils continuously grown with watermelon for 3, 7 and 12 years. The results showed that inoculating arbuscular mycorrhizal fungus could improve the fungus colonization rate, but it decreased with the increasing of replanting years. Arbuscular mycorrhizal fungus could improve the seedlings biomass of watermelon grown in different soils with different replanting years, especially in 3 years' continuous cropping soil. Although arbuscular mycorrhizal fungus could not avoid the occurrence of *Fusarium* wilt disease, it had positive efficacy on disease control. The efficacy of arbuscular mycorrhizal fungus was greater as soil with shorter replanting years.

Key words: arbuscular mycorrhizal fungus; watermelon; greenhouse; continuous cropping; *Fusarium* wilt