

AM 真菌对连作西瓜根内和根围土壤酚酸类物质和 黄酮含量的影响

马 通^{1,2}, 李桂舫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. 青岛农业大学 农学与植保学院, 山东 青岛 266109)

摘 要:AM 真菌是土壤共生真菌中分布最广泛的一类真菌, 有研究表明其对植物次生代谢有影响, 现以“京欣 1 号”西瓜品种为试材, 以不同连作年限土壤为试验土壤, 在温室盆栽条件下, 研究了接种 AM 真菌对不同年限连作西瓜根内和根围土壤中酚酸类和黄酮类含量的影响。结果表明: 接种 AM 真菌能够有效的提高根系内总酚的含量, 增强西瓜根系抗病能力, 减少土壤中酚酸类物质的积累, 不论连作年限的长短, 接种 AM 真菌对连作土壤酚酸类物质的积累都具有较强的抑制作用; 根系内总黄酮的含量变化与总酚的变化趋势较为一致, 呈不断上升的趋势, 说明 AM 真菌有效的提高了根系内次生代谢物质的含量, 且在一定程度上增加了连作土壤中黄酮物质的含量, 且连作年限不同, 对黄酮类物质的含量影响效果也不相同。

关键词:AM 真菌; 西瓜; 连作; 次生代谢物质; 酚酸类; 黄酮类

中图分类号:S 651 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)08-0001-04

植物次生代谢物质是植物通过次级代谢途径产生的物质, 主要指植物酚类物质, 包括类黄酮、酚酸类和单宁, 这些物质对植物各器官的着色、物理伤害、侵染、光过剩或紫外辐射等逆境胁迫的防御, 以及调控植物的抗病性都具有重要作用^[1-3]。但是酚类物质也是化感物质的主要成分, 关于酚类物质对于作物的影响, 多数研究认为低浓度酚类物质促进作物生长, 可提高作物抗性, 而高浓度的则会抑制作物生长, 产生自毒效应^[4]。不同作物甚至同种作物的不同品种, 其次级代谢物质都会存在差异^[5], 因此在轮作种植过程中, 同种酚类物质不会大量积累, 对作物的抑制作用并不明显。但是连作不可避免的会导致同种酚类物质在土壤中的大量累积, 从而产生自毒作用, 导致植物连作障碍。目前, 有研究认为植物根系分泌物和残体分解毒素导致的自毒作用是连作障碍的主要影响因素之一^[6-9]。

AM 真菌是重要的土壤功能菌, 对生态系统稳定性

以及植物抗性具有重要作用^[10]。研究发现接种 AM 真菌的豇豆根系酚类物质含量比未接种高 20%, 而双接种 AM 真菌和土壤酵母菌的植株比对照高 80%^[11]。AM 真菌能一定程度减轻病原物对作物的危害, 能提高作物的抗逆性^[12-14]。通过分根试验发现 AM 真菌对植物酚类物质的增加效应具有系统性而非局部被侵染根段, 并认为酚类物质的系统性增加是 AM 真菌诱导产生系统抗性的生理基础之一^[15]。同时有研究发现接种 AM 真菌的作物具有克服连作障碍的潜力^[16]。

目前, 关于 AM 真菌对连作植物分泌物的研究较少, 而土壤中根系分泌物酚类物质的积累又是造成西瓜连作障碍的主要原因之一, 该试验研究了 AM 真菌对不同连作年限西瓜根内和根际土壤中酚类等次生代谢物的影响, 以期为合理评价 AM 真菌对缓解西瓜连作障碍因子之一的自毒作用提供可靠的依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试西瓜品种为抗枯萎病品种“京欣 1 号”, 购于北京京研益农科技发展中心, 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 28~30℃ 恒温培养箱中催芽, 出芽后播种。

供试 AM 真菌为 *Glomus versiforme*, 由青岛农业大学菌根生物技术研究所提供, 该菌种在以往接种西瓜的

第一作者简介:马通(1989-), 男, 山东滨州人, 硕士研究生, 研究方向为蔬菜栽培生理。

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); 山东省科技发展计划资助项目(2013GNC11014); 青岛市科技计划基础研究资助项目(630603)。

收稿日期:2014-01-14

试验中表现良好。菌剂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。

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的西瓜嫁接连作土。试验所用花盆及育苗穴盘均用甲醛熏蒸灭菌备用。

1.2 试验方法

1.2.1 接种与播种 试验于2011年3~7月在青岛农业大学日光温室内进行。用灭过菌的草炭土进行西瓜穴盘育苗,接种AM真菌的处理均为菌根化育苗。将AM真菌 *Glomus versiforme* 接种物30 mL,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2011年3月2日播种西瓜种子,幼苗3片真叶充分展开时定植到不同连作年限的土壤中。

1.2.2 试验设计 将连作年限3、7、12 a的西瓜嫁接连作土,分别定植接种AM真菌(AM)和不接种AM真菌(CK)的西瓜苗,共6个处理,每个处理重复25盆,共150盆,各处理随机排列,栽培管理条件一致。

1.3 项目测定

西瓜定植2周后,每隔2 d取1次根样,测定根内次生代谢物的含量;于西瓜伸蔓期、开花期和结果期分别取土样风干后测定中根系分泌物的残留量。取新鲜的根样0.0500 g(或土样0.1000 g)采用林植芳等^[17]的方法测定总酚含量;取新鲜的根样0.0500 g(或土样0.1000 g),采用 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ - NaNO_2 - NaOH 比色法测定总黄酮含量^[18]。

2 结果与分析

2.1 AM真菌对连作西瓜根内总酚含量的影响

定植后,随着西瓜的生长发育,根系代谢旺盛,根内的总酚含量不断增多,从图1可以看出,在西瓜定植2周后,总酚含量呈现缓慢上升的趋势,且在连作土壤中接种AM真菌,能有效的提高西瓜根系内总酚的含量,在定植后第17天,连作3、7、12 a的土壤接种AM真菌的各处理,与相对未接种的处理相比,其根系内总酚的含量分别增加了7.32、9.65、7.35 mg/g。说明不论连作年限的长短,AM真菌均能有效的提高根系内总酚的含量,增强西瓜根系抗病能力。

2.2 AM真菌对连作西瓜根际土壤总酚含量的影响

由表1可知,接种AM真菌能有效减少土壤中酚酸类物质的积累。不论连作年限的长短,接种AM真菌对连作土壤酚酸类物质的积累都具有较强的抑制作用,在西瓜结果期,接种AM真菌使连作3、7、12 a的土壤中的酚酸类物质的含量分别比对照降低了16.5、15.9、

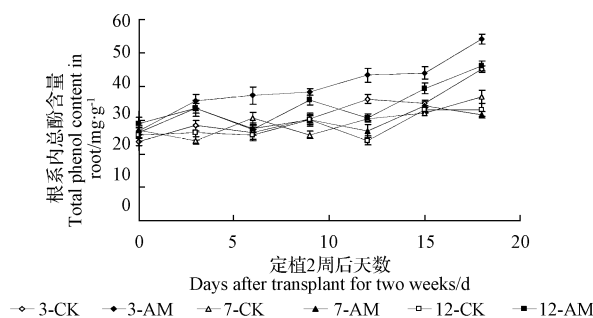


图1 AM真菌对不同连作年限土壤中西瓜根内总酚含量的影响

注:3-CK:连作3 a土壤;3-AM:连作3 a土壤,接种AM真菌;7-CK:连作7 a土壤;7-AM:连作7 a土壤,接种AM真菌;12-CK:连作12 a土壤;12-AM:连作12 a土壤,接种AM真菌。下同。

Fig. 1 Effect of AM fungus on total phenol content of watermelon roots grown in different years' continuous cropping soils

Note:3-CK; continuous cropping soil at 3 years; 3-AM; inoculating AMF in continuous cropping soil at 3 years; 7-CK; continuous cropping soil at 7 years; 7-AM; inoculating AMF in continuous cropping soil at 7 years; 12-CK; continuous cropping soil at 12 years; 12-AM; inoculating AMF in continuous cropping soil at 12 years. The same as below.

27.3 mg/g,有效的减少了西瓜自毒物质在连作土壤中的残留。而同一连作年限的处理,在西瓜整个生育周期内,接种AM真菌对土壤中酚酸类物质的分解作用,始终与CK保持在显著水平,减轻了连作过程中自毒作用的危害。

表1 AM真菌对西瓜连作土壤总酚含量的影响

Table 1 Effect of AM fungus on total phenol content in continuous cropping soil

处理 Treatments	土壤总酚含量 Total phenol content in soil/mg·g ⁻¹		
	伸蔓期 Vine-extending stage	开花期 Flowering stage	结果期 Fruiting stage
3-CK	37.7 c	50.4 b	58.9 b
3-AM	36.0 d	50.7 b	42.3 d
7-CK	47.5 a	56.6 a	68.8 a
7-AM	42.8 b	43.8 c	52.9 c
12-CK	49.1 a	47.9 b	69.8 a
12-AM	42.4 b	39.8 d	42.5 d

注:各列数值后的不同小写字母分别表示 $P < 0.05$ 水平差异显著。下同。

Note: Different lowercase in columns mean significant difference at $P < 0.05$ level. The same as below.

2.3 AM真菌对连作西瓜根内总黄酮含量的影响

由图2可以看出,在西瓜定植2周后的生长发育阶段,根内总黄酮含量变化也呈不断上升的趋势,其中在定植20 d时,上升幅度最大,不同连作年限未接种的处理,分别比定植2周时增加了3.59%、3.11%和2.10%。而接种AM真菌后,根内总黄酮含量均有不同程度的升高,在定植20 d时,与未接种相比,分别增加了0.33%、0.75%和1.05%。其中以连作12 a的土壤处理

升高幅度最大。说明 AM 真菌有效的提高了根系内次生代谢物的含量,且连作年限不同,其 AM 真菌的促进效果也不尽相同。

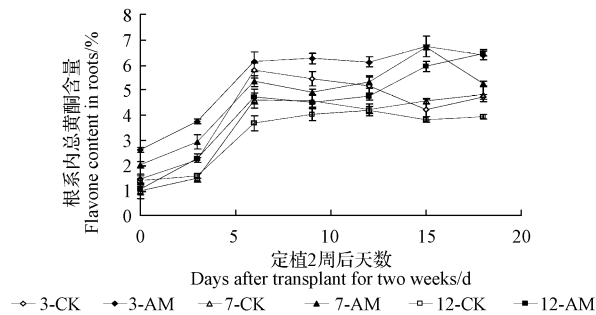


图2 AM真菌对西瓜不同连作年限根内总黄酮含量的影响

Fig. 2 Effect of AM fungus on flavones content of watermelon roots grown in different years' continuous cropping soils

2.4 AM真菌对连作西瓜根际土壤总黄酮含量的影响

从表2可以看出,AM真菌处理不同程度地增加了西瓜不同连作年限土壤中总黄酮的含量。接种AM真菌能增加西瓜连作土壤中总黄酮的含量,其中对连作12a的土壤影响最大,达到了显著水平。从西瓜整个生长周期来看,AM真菌对西瓜伸蔓期土壤中总黄酮含量的影响效果最显著,接种AM真菌的各处理土壤内总黄酮含量分别比各自未接种的对照增加0.54、0.36和0.98个百分点。表明AM真菌能在一定程度上增加连作土壤中黄酮物质的含量。

表2 AM真菌对西瓜不同连作年限土壤中总黄酮含量的影响

Table 2 Effect of AM fungus on flavones content in different years' continuous cropping soil

处理 Treatments	土壤中黄酮含量 Flavones content in soil/%		
	伸蔓期 Vine-extending stage	开花期 Flowering stage	结果期 Fruiting stage
3-CK	3.12 bc	3.06 ab	3.05 b
3-AM	3.66 ab	3.48 a	3.23 ab
7-CK	2.81 c	2.90 ab	3.17 b
7-AM	3.17 bc	2.94 ab	3.77 a
12-CK	2.92 c	2.86 b	3.18 b
12-AM	3.90 a	3.44 ab	3.77 a

3 讨论

酚类物质是植物最广泛的次生代谢产物,AM真菌能诱导植物产生酚类物质,它们涉及到植物与微生物的相互作用,及植物生理的其它方面,包括紫外保护、色素形成、细胞壁组成、信号或调节植物与微生物相互关系等^[19]。AM真菌在提高植物保护或土传病原抗性方面有促进作用,接种AM真菌后,植物根系中有机酸含量的增加,将会对根围的pH值有重要影响,这可能是对某些土壤真菌的生物防治的潜在机制^[20]。该试验表明,无

论连作年限长短,接种AM真菌能显著提高西瓜根系内总酚和总黄酮的含量。普遍观点认为酚酸类化合物增多,会导致细胞壁增厚,从而形成抗病菌入侵的天然屏障^[21],而植物根中酚代谢物的增加是AM真菌生防作用的机制之一。此外,AM真菌侵染能够提高植株体内信号分子水杨酸和H₂O₂的含量,并通过胞间运输,达到系统抗病效应^[22]。

在植物代谢过程中根系分泌物受多方面的影响,而土壤中微生物对根系分泌物不但有刺激作用也有一定的制约作用^[7]。在该试验中,随着西瓜植株的生长发育,AM真菌增强了西瓜植株的生长与代谢,使根系分泌物数量明显增加,根系中酚酸类物质快速积累;由于根系分泌物的增加,同时也为土壤微生物提供了更多的能源,促进了土壤微生物的新陈代谢,微生物生长越旺盛,数量也相应增加^[23]。

酚类物质能刺激土壤中真菌的繁殖^[8]。外源酚酸类物质处理浓度在120 μg/g时土壤真菌数量(包括尖孢镰刀菌、疫霉)达到最大值,而多种土壤酶活性呈先升高后降低趋势^[24]。自毒物质肉桂酸、苯甲酸可以显著提高西瓜枯萎病的发病率^[25]。而该研究证实,接种AM真菌的西瓜,对连作土壤中总酚物质的积累具有抑制与分解作用,能有效的减轻西瓜连作对下茬作物生长的抑制作用。接种AM真菌后,土壤中的微生物种群数量得到了改善,AM真菌能对释放到土壤中的根系分泌物进行分解与过滤,其中一部分被土壤中的微生物作为营养而利用,正是由于微生物对分泌物的利用及AM真菌的代谢,使土壤中的分泌物数量和组成发生了改变^[26]。说明接种AM真菌能在一定程度上减轻连作障碍因子自毒作用。

参考文献

- [1] Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products; antioxidant activity, occurrence, and potential uses[J]. Food Chemistry, 2005, 99(1): 191-203.
- [2] Huang K L, Miyajima I, Okuboa H, et al. Flower colours and pigments in hybrid tuberose (*Polianthes*) [J]. Scientia Horticulturae, 2001, 88(3): 235-241.
- [3] Albert N W, Lewis D H, Zhang H, et al. Light-induced vegetative anthocyanin pigmentation in *Petunia* [J]. Journal of Experimental Botany, 2009, 60(7): 2191-2202.
- [4] Hiraddate S, Morita S, Furubayashi A, et al. Plant growth inhibition by cis-cinnamoyl glucosides and cis-cinnamic acid [J]. Journal of Chemical Ecology, 2005, 31(3): 591-601.
- [5] 郑倩, 李俊华, 危常州, 等. 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[J]. 棉花学报, 2012, 24(4): 363-369.
- [6] 喻景泉, 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.
- [7] 高子勤, 张淑香. 连作障碍与根际微生态研究 I. 根系分泌物及其生态效应[J]. 应用生态学报, 1998, 9(5): 549-554.
- [8] 张淑香, 高子勤. 连作障碍与根际微生态研究 III. 土壤酚酸物质及其

- 生物学效应[J]. 应用生态学报, 2000, 11(5): 741-744.
- [9] 阮奕平. 蔬菜连作障碍中自毒作用及其缓解措施研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- [10] 刘润进, 陈应龙. 菌根学[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [11] Bobby V U, Balakrishna A N, Bagyaraj D J. Interaction between *Glomus mosseae* and soil yeasts on growth and nutrition of cowpea[J]. Microbiological Research, 2008, 163(6): 693-700.
- [12] 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.
- [13] Vos C, Claerhout S, Mkandawire R, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi reduce root-knot nematode depenetration through altered root exudation of their host[J]. Plant and Soil, 2012, 354(1): 335-345.
- [14] 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(6): 651-664.
- [15] Zhu H H, Yao Q. Localized and systemic increase of phenols in tomato roots induced by *Glomus versiforme* inhibits *Ralstonia solanacearum* [J]. Journal of Phytopathology, 2004, 152(10): 537-542.
- [16] 赵萌, 李敏, 王森焱, 等. AM 真菌克服作物连作障碍的潜力[J]. 山东科学, 2006, 19(6): 40-48.
- [17] 林植芳, 李双顺, 张东林, 等. 采后荔枝果皮色素、总酚及有关酶活性的变化[J]. 植物学报, 1988, 30(1): 40-45.
- [18] 郭亚健, 范莉, 王晓强, 等. 关于 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3\text{-NaNO}_2\text{-NaOH}$ 比色法测定总黄酮方法的探讨[J]. 药物分析杂志, 2002, 22(2): 97-99.
- [19] 张瑞芹, 赵海泉, 朱红惠, 等. 丛枝菌根真菌诱导植物产生酚类物质的研究进展[J]. 微生物学通报, 2010, 37(8): 1216-1221.
- [20] Harrier L A, Watson C 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(2): 149-157.
- [21] 赵昕, 阎秀峰. 丛枝菌根真菌对植物次生代谢的影响[J]. 植物生态学报, 2006, 30(3): 514-521.
- [22] Khaosaad T, Garca-Garrido J M, Steinkellner S, et al. Take-all disease is systemically reduced in roots of mycorrhizal barley plants [J]. Soil Biol Biochem, 2007, 39(3): 727-734.
- [23] 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(7): 17-22.
- [24] 马云华, 王秀峰, 魏珉, 等. 黄瓜连作土壤酚酸类物质积累对土壤微生物和酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2005, 16(11): 2149-2153.
- [25] 王倩, 李晓林. 苯甲酸和肉桂酸对西瓜幼苗生长及枯萎病发生的作用[J]. 中国农业大学学报, 2003, 8(1): 83-86.
- [26] 张玉凤, 冯固, 李晓林. 丛枝菌根真菌对三叶草根系分泌的有机酸组分和含量的影响[J]. 生态学报, 2003, 23(1): 30-37.

Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungus on the Content of Phenolic Acids and Flavonoids in Continuous Cropping Watermelon Roots and Rhizosphere Soils

MA Tong^{1,2}, LI Gui-fang³, 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. College of Agronomy and Plant Protection, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract: Arbuscular mycorrhizal (AM) fungus is symbiotic fungus widely distributed in soil. Research had shown that AM fungus could affect the plant secondary metabolism. Taking watermelon ‘Jingxin No. 1’ and soils continuously grown with watermelon for different years as materials. The effect of AM fungus on the content of secondary metabolites in watermelon roots and the residue of root’s exudates in soils were studied in different years’ continuous cropping soil. The results showed that AM fungus could effectively improve the content of total phenols in the roots, enhance the resistance of watermelon root disease, and reduce the accumulation of phenolic acids in the soil. AM fungus had a strong inhibitory effect on the accumulation of continuous cropping soil phenol acids, regardless of the replanting years. The changing trends of root’s total flavonoid and total phenol were consistent, showing a rising trend. It showed that AM fungus effectively raised the roots of the content of secondary metabolites and to some extent, increased content of flavonoid in continuous cropping soil. The effect of AM fungus on the content of flavonoid in different years’ continuous cropping soils was also different.

Key words: arbuscular mycorrhizae fungus; watermelon; continuous cropping; secondary metabolism; phenolic acids; flavonoid