

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

李海燕¹ 刘润进² 束怀瑞^{1,*}

(¹ 山东农业大学园艺学院, 泰安 271018; ² 莱阳农学院菌根实验室, 莱阳 265200)

摘要: 在温室盆栽条件下对‘巨峰’葡萄扦插苗接种丛枝菌根 (AM) 真菌 (*Glomus versiforme* Berch、*Gigaspora margarita* Becker & Hall 及 *Glomus mosseae* Nicolson & Gledermann) 和南方根结线虫 (*Meloidogyne incognita*)。结果表明, 供试 AM 真菌能不同程度地抑制南方根结线虫病害的发生发展, 降低根围土壤中二龄幼虫数量、卵块直径、平均每个卵块的卵量及平均每克葡萄根系上的卵量, 先接种 AM 真菌后接种南方根结线虫的处理比同时接种二者抑制线虫病害的效果更好。接种 AM 真菌可提高葡萄植株光合速率, 增加植株高度、茎粗、叶面积、地上部干样质量和地下部干样质量, 这在一定程度上补偿了由于线虫所造成的损害。此外, 接种南方根结线虫降低了 *G. mosseae* 的根内泡囊和入侵点数量、*G. versiforme* 及 *G. margarita* 的侵染率; 但增加了 *G. versiforme* 及 *G. margarita* 的根内泡囊数及入侵点数。因此, 对每一种 AM 真菌—植物—线虫组合关系不可能作出统一的概括。

关键词: AM 真菌; 葡萄; 南方根结线虫; 相互作用

中图分类号: S 663.1; S 476 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2002) 06-0510-05

南方根结线虫是危害葡萄根系的重要病原, 近年来此病害日趋严重, 山东主要葡萄产区被害株率约为 15%~20%, 减产约 10%~20%, 严重发生园被害株率高达 100%, 减产 80% 以上, 甚至绝收。人们通常选用抗性砧木、化学防治或苗木处理等方法来防治根结线虫。目前生产上所用铁灭克、涕灭威等化学方法效果较好, 但是成本较高, 且剧毒, 易造成环境污染, 破坏土壤生物区系。因此, 探索新的防治方法是十分必要的。利用菌根真菌防治线虫病害的研究工作国外已有一些报道^[1~3], 国内则刚刚起步^[4]。本试验旨在探索 AM 真菌与葡萄南方根结线虫间的相互作用关系及其对寄主葡萄的影响, 为今后进一步深入研究提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料和处理

试验于 2001 年 3~8 月在莱阳农学院进行。采用温室沙培盆栽, 粗沙过筛后的细沙高压蒸汽灭菌 (121℃, 1 h)。¹ ‘巨峰’ (Kyoho) 葡萄于 3 月 15 日开始扦插 (5 株/盆), 扦插 60 d 时 (5 月 15 日) 进行 11 种处理, 其中, 先接种 AM 真菌后接种南方根结线虫的处理于 4 月 20 日先接种 AM 真菌, 5 月 15 日再接种南方根结线虫。每处理 3 盆, 随机排列, 重复 5 次。AM 真菌接种势为 8 000, 南方根结线虫接种量为 15 000 个二龄幼虫/盆。每隔 2 d (或根据需要) 浇 1 次营养液。接种线虫后 45 d 时所有处理同时取样测定各项指标。测量数据均进行方差分析。

1.2 调查和测定

1.2.1 植株生长量 取每处理的葡萄植株各 75 株, 分别测定株高、茎粗 (2~3 节位间的直径)、叶面积 (自上至下 6、7 节位上的叶片)、地上部和地下部干样质量等指标。

1.2.2 净光合速率、气孔导度和蒸腾速率 每处理各取 75 株, 采用 PP-system CIRAS1 光合测定仪分

收稿日期: 2002-04-09; 修回日期: 2002-06-25

*通讯作者。E-mail: hrshu@sdau.edu.cn

别测定植株自上到下6、7节位上叶片的净光合速率、气孔导度和蒸腾速率。

1.2.3 AM真菌侵染率、根内孢囊数和入侵点数 参考刘润进的方法^[5]，用KOH透明，酸性品红染色后在BX50型OLYBUS显微镜下观察测定。每处理测定100条根段，根据每段根系菌根结构的多少按0、10%、20%、30%、...100%的侵染数量计量每条根段的侵染率，依下列公式计算该样品菌根的侵染率，并利用目镜测微尺测定单位根系长度（mm）孢囊数和入侵点数。侵染率（%）=（0×根段数+10%×根段数+20%×根段数+...100%×根段数）/观察总根段数。

1.2.4 根上及土壤中南方根结线虫繁殖体的数量 参照刘维志的方法^[6]，首先用35目及400目筛子收集幼虫于150 mL烧杯中，然后低速离心（420 r/min）5 min，倒掉上清液，注入38.5%的蔗糖溶液，混匀后离心（420 r/min）30 s，使线虫分布于蔗糖悬液中。最后将含有线虫的蔗糖悬液倾入500目筛子内，并用20 mL水淋洗线虫于150 mL烧杯中计数100 mL根围土壤中的二龄幼虫数。用目镜测微尺测定10个卵块的直径（ 10^{-2} mm），计算平均值。机械破碎每个卵块，制成20~25 mL卵悬浮液，然后加2滴含0.35%酸性品红的25%乳酸溶液，在通风橱内煮沸1 min，冷却后计数每个卵块里的卵量。取每个样品根系3 g，洗净后切成1~2 cm根段，放在200 mL水中，加入5.25%次氯酸钠20 mL，在通风橱内搅动10 min，用常规筛去除残碎片，将此亚标样倾入500目筛子内，冲洗筛子上的卵到150 mL烧杯中，制成20~25 mL卵悬浮液，按前述方法计数卵量。

2 结果与分析

2.1 接种AM真菌和南方根结线虫对葡萄植株生长发育的影响

由表1可以看出，只接种南方根结线虫而未接种AM真菌的处理，其株高、茎粗、叶面积、地下及地上干样质量均低于对照，并且除茎粗外，其它各指标还与对照间达到了显著差异，表明在本试验条件下所采用的南方根结线虫接种量（二龄幼虫15 000个/盆）确实对葡萄植株造成了危害。但接种AM真菌的处理，以上各项指标均高于只接种南方根结线虫的处理，并且达到了显著或极显著差异，表明AM真菌能减轻南方根结线虫对葡萄植株造成的危害程度。此外，在AM真菌与南方根结线虫接种的时间顺序上，先接种AM真菌后接种南方根结线虫的处理抑制南方根结线虫病害的效果好于同时接种AM真菌和南方根结线虫的处理，主要表现在先接种AM真菌后接种南方根结线虫的处理，其株高、茎粗、叶面积、地下及地上干样质量均高于相应的同时接种AM真菌和南方根结线虫的处理。尤其对于抑制南方根结线虫病害较好的菌种*G. versiforme*，先接种*G. versiforme*后接种*M. incognita*的处理（*G.v+M.i），以上各项指标与同时接种*G. versiforme*和*M. incognita*的处理（G.v+M.i）间差异显著，而且*G.v+M.i处理在减轻南方根结线虫对根系造成的危害方面的效果尤为突出（图1）。

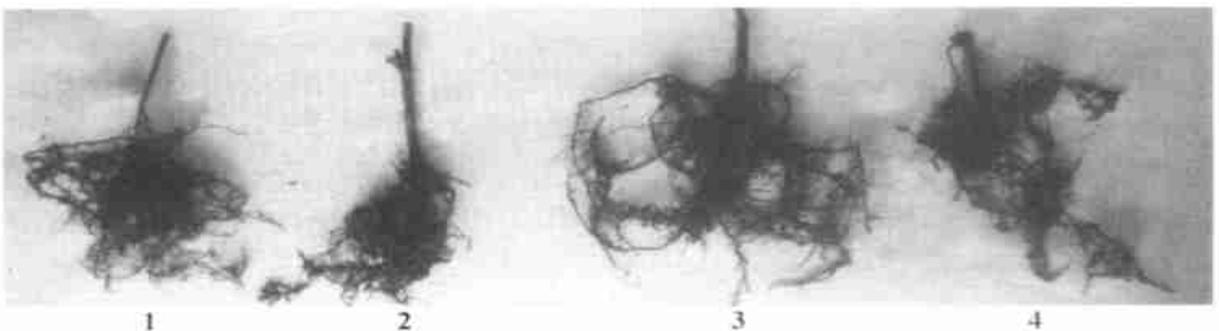


图1 接种AM真菌和南方根结线虫对葡萄植株根系大小的影响

1: 不接种对照; 2: 只接种南方根结线虫; 3: 先接种AM真菌*G. versiforme*, 后接种南方根结线虫*M. incognita*;
4: 同时接种AM真菌*G. versiforme*和南方根结线虫*M. incognita*。

Fig. 1 Effects of inoculation with AM fungi and *M. incognita* on root size of grape

1: Control; 2: Only inoculating *M. incognita*; 3: Pre-inoculating AM fungi *G. versiforme* and post-inoculating *M. incognita*;
4: inoculating AM fungi *G. versiforme* and *M. incognita* concurrently.

表 1 接种 AM 真菌和南方根结线虫对葡萄植株生长发育的影响

Table 1 Effects of inoculation with AM fungi and *M. incognita* on growth and development of grape

处 理 Treatments	株 高 Height of plant (cm)	茎 粗 Diameter of stem (cm)	叶 面 积 Area of leaves (cm ²)	地下干样质量 Dry mass of roots (g)	地上干样质量 Dry mass of tops (g)
对照 Control	30.83 b AB	0.368 ab AB	56.87 ab AB	2.90 b B	3.17 b BC
G.v	41.00 a A	0.422 a A	73.41 a A	4.85 a A	4.07 a A
G.m	32.70 ab AB	0.383 ab AB	72.29 a A	3.39 b B	3.84 ab AB
G.m	23.47 bc BC	0.379 ab AB	59.57 ab AB	3.35 b B	3.20 b BC
M.i	16.70 c C	0.318 b AB	30.50 c B	2.12 c BC	2.24 c BC
*G.v+M.i	29.51 b AB	0.398 a A	59.62 ab AB	3.11 b B	3.66 ab AB
*G.m+M.i	19.50 bc B	0.352 b AB	47.17 bc B	2.92 b B	2.59 c BC
*G.m+M.i	21.00 bc B	0.339 b AB	43.29 c B	2.53 bc BC	2.70 c BC
G.v+M.i	18.17 c B	0.352 b AB	33.60 c B	2.25 c BC	2.53 c BC
G.m+M.i	18.17 c B	0.341 b AB	32.49 c B	2.20 c BC	2.49 c BC
G.m+M.i	18.10 c B	0.335 b AB	35.70 c B	2.26 c BC	2.38 c BC

注: G.v、G.m及G.m: 只接种 AM 真菌 *G. versiforme*、*G. margarita* 及 *G. mosseae*; M.i: 只接种南方根结线虫; *G.v+M.i、*G.m+M.i 及 *G.m+M.i: 先接种 *G. versiforme*、*G. margarita* 及 *G. mosseae* 后接种南方根结线虫; G.v+M.i、G.m+M.i 及 G.m+M.i: 同时接种 *G. versiforme*、*G. margarita* 及 *G. mosseae* 和南方根结线虫。小写字母为 0.05 显著水平; 大写字母为 0.01 显著水平。

Note: G.v, G.m and G.m: Only inoculating *G. versiforme*, *G. margarita* and *G. mosseae*; M.i: Only inoculating *M. incognita*; *G.v+M.i, *G.m+M.i and *G.m+M.i: pre-inoculating *G. versiforme*, *G. margarita* and *G. mosseae* and post-inoculating *M. incognita*; G.v+M.i, G.m+M.i and G.m+M.i: treatments inoculating *G. versiforme*, *G. margarita* and *G. mosseae* and *M. incognita* concurrently. Different small letters mean significant at 5% level; Different capital letters mean significant at 1% level.

2.2 接种 AM 真菌和南方根结线虫对葡萄植株光合作用的影响

本试验结果表明, 对照、只接种 AM 真菌、*AM+M.i 及 AM+M.i 处理的净光合速率、气孔导度及蒸腾速率均比单一 M.i 处理高 (表 2), 其中, 除 G.m+M.i 及 G.m+M.i 处理外, 其它处理的净光合速率均与 M.i 处理间差异显著。这说明 AM 真菌促使气孔导度增大, CO₂ 进出气孔的速率随之增大, 从而净光合速率显著增大, 明显减轻了南方根结线虫对葡萄植株光合作用造成的危害程度。此外, 不同菌种提高葡萄光合作用的能力不同, 先接种 AM 真菌 *G. versiforme* 后接种 *M. incognita* 的处理, 其净光合速率虽然低于只接种 AM 真菌 *G. versiforme* 的处理, 但二者间未达到显著差异, 但对于 AM 真菌 *G. margarita* 和 *G. mosseae*, *G.m+M.i 和 *G.m+M.i 处理的净光合速率均分别低于 G.m 和 G.m 处理, 并达到了显著差异。因此, *G. versiforme* 对于减轻南方根结线虫对葡萄植株造成危害, 提高光合作用的效果最好, *G. margarita* 次之, *G. mosseae* 的作用不明显。从接种的时间顺序上看, 先接种 AM 真菌后接种南方根结线虫的处理提高光合作用的效果好于 AM 真菌和南方根结线虫同时接种的处理。

2.3 AM 真菌对南方根结线虫繁殖体的影响

先接种 AM 真菌后接种南方根结线虫及同时接种二者的各处理, 其卵块直径、平均每个卵块里的卵量、100 mL 根围土里二龄幼虫数及平均每克根上的卵量均低于只接种南方根结线虫的处理, 而且 *G.v+M.i 及 *G.m+M.i 与 M.i 之间均达到了显著差异 (表 3)。说明 AM 真菌可能通过某种途径减少或抑制线虫对营养的摄入, 从而抑制卵块的增大, 并减少卵量, 以抑制线虫繁殖体的数量。

表 2 接种 AM 真菌和南方根结线虫对葡萄光合作用的影响
Table 2 Effects of inoculation with AM fungi and *M. incognita* on photosynthesis of grape

处 理 Treatment	净光合速率 Net photosynthesis rate (CO ₂ μmol · m ⁻² · s ⁻¹)	气孔导度 Stomatal conduction (mol · m ⁻² · s ⁻¹)	蒸腾速率 Rate of transpiration (mol · m ⁻² · s ⁻¹)
CK	8.97 bc ABCD	0.5226 cd C	11.98 ab A
G.v	11.73. a AB	0.7973 a A	13.79 a A
G.m	11.98 a A	0.7633 ab AB	14.31 a A
G.m	10.17 ab ABC	0.6548 abc ABC	13.01 ab A
M.i	5.78 d DE	0.3112 e D	8.48 c B
*G.v+M.i	10.52 ab ABC	0.6350 bc ABC	13.65 a A
*G.m+M.i	8.98 bc ABCD	0.5557 cd BC	12.96 ab A
*G.m+M.i	7.42 cd CD	0.5398 cd C	12.44 ab A
G.v+M.i	8.45 bc BCD	0.5365 cd C	12.09 ab A
G.m+M.i	6.45 d DE	0.5226 cd C	11.98 ab
G.m+M.i	6.17 d DE	0.4455 de CD	10.96 b AB

注: 同表 1。Note: The same as table 1.

表 3 AM 真菌对南方根结线虫繁殖体的影响

Table 3 Effects of AM fungi on numbers of propagula

处 理 Treatment	of <i>M. incognita</i>			
	100 mL 根围 土里的二龄 幼虫数 J2 number in per 100 mL rhizospheric soil	卵块直径 Diam of egg mass (10^{-2} mm)	每个卵块中 的平均卵量 Eggs number in per egg mass	平均每克根 上的卵量 Cysts number on per gram roots
M.i	702 a A	71.5 a A	451 a A	32 800 a A
*G.v+M.i	292 b B	59.2 b B	344 c D	20 000 b B
*G.m+M.i	349 b AB	60.1 b AB	387 c C	20 100 b B
*G.m+M.i	370 ab A	64.3 b AB	413 b BC	22 100 ab AB
G.v+M.i	383 ab A	66.3 b AB	404 b BC	21 500 b B
G.m+M.i	420 ab A	69.1 a AB	436 ab AB	25 300 ab AB
G.m+M.i	536 ab A	70.6 a A	439 ab AB	25 300 ab AB

注: 同表 1。Note: The same as table 1.

表 4 南方根结线虫对 AM 真菌发育状况的影响

Table 4 Effects of *M. incognita* on development of AM fungi

处 理 Treatments	侵 染 率 Colonization Percent (%)	每 mm 根内泡囊数 No. of vesicles per mm root length	每 mm 根长入侵点 No. of entry points per mm root length
G.v	62.00 a A	17.45 a A	2.04 a A
G.m	60.38 ab A	—	1.17 b B
G.m	61.52 ab A	2.82 d C	0.95 b B
*G.v+M.i	60.79 ab A	17.91 a A	3.99 a A
*G.m+M.i	58.96 ab A	—	1.35 b B
*G.m+M.i	61.76 ab A	2.56 d C	0.74 b B
G.v+M.i	54.75 ab A	12.04 bc B	2.03 b A
G.m+M.i	52.07 b A	—	0.68 b B
G.m+M.i	53.98 ab A	2.11 d C	0.52 b B

注: 同表 1。Note: The same as table 1.

2.4 南方根结线虫对 AM 真菌发育状况的影响

接种南方根结线虫使 *G. versiforme* 及 *Gi. margarita* 两个菌种的菌根侵染率低于相应的未接种南方根结线虫的处理, 而对于 *G. mosseae* 菌种, 先接种该真菌后接种南方根结线虫的处理菌根侵染率反而稍高于只接种该菌种而未接种南方根结线虫的处理, 但均未达到显著差异, 说明接种南方根结线虫并未显著影响 AM 真菌的菌根侵染率 (表 4)。另外, 值得注意的是, 对于 *G. versiforme* 菌种, 先接种该菌种后接种南方根结线虫的处理, 其根内泡囊数高于该菌种未接种南方根结线虫的处理, 而对于 *Gi. margarita* 菌种, 无论是先接种还是同时接种该菌种与南方根结线虫的处理, 其根内泡囊数均高于该菌种未接种南方根结线虫的处理, 但均未达到显著差异。此外, 接种南方根结线虫降低了 *G. mosseae* 的入侵点数, 但对于抗南方根结线虫病害较好的 *G. versiforme* 及 *Gi. margarita* 两个菌种, 先接种这两个菌种后接种南方根结线虫的处理, AM 真菌在根上的入侵点数均高于这两个菌种相应的未接种南方根结线虫的处理, 而恰恰是这两个菌种的这两种处理是提高葡萄植株抗南方根结线虫病害的较好组合。由此可见, 入侵点数的增加可能也是抗线虫病害较好的 AM 真菌菌种提高植株抵御该病害的一种反应。

3 小结与讨论

本试验结果表明, 先接种 AM 真菌后接种南方根结线虫的处理具有较强的提高葡萄植株的生长发育, 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 真菌和南方根结线虫的处理在这几方面表现较差。这可能是由于 AM 真菌在根系上侵染扩展的部位与南方根结线虫等内寄生线虫占据的部位相同, 存在空间竞争, 此外二者也可能存在着养分竞争^[7]。

接种南方根结线虫对不同的 AM 真菌菌种在葡萄根内的发生发展有不同影响。例如, 接种 *M. incognita* 后降低了 *G. mosseae* 在葡萄植株根内泡囊和入侵点数量及 *G. versiforme* 和 *Gi. margarita* 的侵染率; 但提高了 *G. mosseae* 的侵染率及 *G. versiforme* 和 *Gi. margarita* 的根内泡囊数及入侵点数。因此, 对每一种 AM 真菌—植物—线虫组合关系不可能作出统一的概括。另外, 本试验结果表明, *G. versiforme* 和 *Gi. margarita* 两个 AM 真菌菌种抑制葡萄南方根结线虫病害的作用好于 *G. mosseae* 菌种, 因此, AM 真菌的菌根侵染率可能与其抗病性无直接关系。值得注意的是, 对于抗病性较强的 *G. versiforme* 和 *Gi. margarita* 两个菌种的 *G.v+M.i 及 *G.m+M.i 处理, 菌根入侵点数量还高于相对应的 G.v 及 G.m 两个处理。最近, 作者研究发现, AM 真菌侵染寄主根系时激起了寄主的防御反应, 提高了与抗病性有关的酶活性, 从而使寄主植物对病原物的再次进攻产生快速反应, 提高了抗病性。因此, 入侵点数量的增加可能意味着能激起寄主防御反应的次数也增加, 从而提高寄主植物的抗病

性, 该方面的分子机制研究正在进行。

参考文献:

- Smith G S, Roncadori R W, Hussey R S. Interaction of endomycorrhizal fungi, sperphosphate, and *Meloidogyne incognita* on cotton in microplot and field studies. *J. Nematol.*, 1986, 18: 208 ~ 216
- Grandison G S, Cooper K M. Interaction of vesicular-arbuscular mycorrhizae and cultivars of alfalfa susceptible and resistant to *Meloidogyne hapla*. *J. Nematol.*, 1986, 18: 141 ~ 149
- Jothi G, Rajeshwari-Sundarababu, Sundarababu R. Interaction of vesicular-arbuscular mycorrhizae with reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis* on ragi. *Indian Journal of Nematology*, 1998, 28 (2): 145 ~ 149
- 王艳玲, 胡正嘉. VA 菌根真菌对番茄线虫病的影响. *华中农业大学学报*, 2001, 19 (1): 25 ~ 28
- 刘润进, 李晓林主编. 丛枝菌根及其应用. 北京: 科学出版社, 2000. 193
- 刘维志主编. 植物线虫学研究技术. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1995. 36 ~ 42
- 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. *菌物系统*, 2001, 20 (3): 435 ~ 439

Interaction between AM Fungi and Grape *Meloidogyne incognita*

Li Haiyan¹, Liu Runjin², and Shu Huairui¹

¹ College of Horticultural Science, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China; ² Mycorrhiza Laboratory, Laiyang Agricultural College, Laiyang 265200, China)

Abstract: The interactions between arbuscular mycorrhizal (AM) fungi *Glomus versiforme* Berch, *Gigaspora margarita* Becker & Hall, *Glomus mosseae* Nicolson & Cødermann and *Meloidogyne incognita* on grape 'Kyoho' were studied under the condition of pot culture in a greenhouse. The results showed that the tested AM fungi were able to inhibit the generation and development of *M. incognita*, decrease the number of the second-stage juveniles in the soil of root zone, the diameter of egg mass, the number of eggs in per egg mass and on per gram root; In addition, the treatment of pre-inoculating AM fungi and post-inoculating *M. incognita* performed more effectively on grape's resistance to *M. incognita* than that inoculating AM fungi and *M. incognita* concurrently; Inoculating AM fungi promoted plant's photosynthesis, increased plant height, stem diameter, leaf area, dry mass of tops or roots, which compensated the damage produced by *M. incognita*; Inoculating *M. incognita* decreased the number of vesiculars and entry points number of *G. mosseae*, as well as the colonization percent of *G. versiforme* and *Gi. margarita*, while increased the number of vesiculars and entry points of *G. versiforme* and *Gi. margarita*. Therefore, we can not give a common conclusion to the every association of AM fungi-plant-nematode.

Key words: AM fungi; Grape; *Meloidogyne incognita*; Interaction

欢迎购阅下列新书

- | | | |
|--------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|
| 2- 1 《英汉农业大词典》218 元 | 2- 13 《花卉病虫害防治手册》42 元 | 3- 3 《中国农用新产品指南》养殖业卷 99 元 |
| 2- 2 《英汉园艺学词典》23 元 | 2- 14 《花卉病虫害防治彩色图说》20 元 | 3- 4 《新编拉丁英植物名称》185 元 |
| 2- 3 《花卉资源原色图谱》218 元 | 2- 15 《中国蔬菜花粉扫描电镜图解》40 元 | 3- 5 《中国农牧业单位名录大全》2000 版 (种植卷) 110 元 |
| 2- 5 《农业百科全书 观赏园艺卷》165 元 | 2- 17 《中国科学技术专家传略》(农学编 园艺卷 2) 57 元 | 3- 6 《中国果树实用新技术大全·落叶果树卷》178 元 |
| 2- 6 《农业百科全书 果树卷》61 元 | 2- 18 《中国科学技术专家传略》(农学编 综合卷 2) 66 元 | 3- 7 《中国果树实用新技术大全·常绿果树卷》178 元 |
| 2- 8 《葡萄学》141 元 | 2- 27 《芽苗蔬菜生产技术图册》32 元 | |
| 2- 9 《苹果学》176 元 | 3- 2 《中国农用新产品指南》种植业卷 99 元 | |
| 2- 10 《柑橘学》207 元 | | |
| 2- 12 《中国水生蔬菜》62 元 | | |

以上价格已含邮资。购书者请通过邮局汇款至北京中关村南大街 12 号《园艺学报》编辑部, 邮编: 100081。