

文章编号: 100F 1498(2004) 04 044F 06

AM 菌根化的两种桉树苗对青枯病的抗性研究

弓明钦, 陈羽, 王凤珍

(中国林业科学研究院热带林业研究所, 广东 广州 510520)

摘要: AM 菌对桉树幼苗接种可提高对青枯病的抗性。在有 AM 菌存在的情况下, 桉树幼苗不发病或发病较轻。对两种桉树幼苗进行青枯病菌的人工接种结果表明: 菌根苗比无菌根苗的发病率降低 10% ~ 40%, 而幼树的高生长可增加 12% ~ 39%; AM 菌对青枯病的防治效果优于外生菌根(即 ECM)的效果, 其中以 AM 6008 和 AM 9004 菌株的效果最好, 而 AM 3006 的效果较差; 大田试验结果表明, 经 AM 菌根化的幼苗对青枯病的抗病作用较强, 发病率可下降 10.0% ~ 17.5%。

关键词: 丛枝菌根; 桉树青枯病; 抗病性

中图分类号: S792.39 S763.1 文献标识码: A

丛枝菌根(即 AM, 过去称为 VA 菌根)与植物病害的关系向来为人们所关注。有人认为 AM 菌可能促进某些植物病害的严重发生, 如大豆(*Glycine max* (L.) Merr.) 根系接种大果球囊霉(*Glomus macrocarpum* Tul & Tu.) 后, 其菌根感染率的大小与由大雄疫霉(*Phytophthora megasperma* Drechs.) 引起根腐病的发病率呈正相关^[1]; 郭秀珍等^[2]也发现, 葡萄(*Vitis vinifera* L.) 组培苗接种 AM 菌后, 会加重由葡萄单轴霉(*Plasmopara viticola* (Berk. et Curt.) Berk et de Tomi) 引起的霜霉病严重发生; 此外, 还有烟草(*Nicotiana tabacum* L.) 因感染 AM 菌而导致烟草花叶病(TMV)严重发生的例子^[3]等。

然而, 多数研究结果却与此完全相反, 证明 AM 菌接种对某些植物病害具有明显的防治作用。如棉花(*Gossypium hirsutum* L.) 接种摩西球囊霉(*Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe) 后, 由根串珠霉(*Thielaviopsis basicola* (Berk. et Br.) Fer.) 引起的根病明显减轻^[4]; 而蕃茄(*Lycopersicon esculentum* Mill.) 接种摩西球囊霉后, 可以防止由尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* Schlecht.) 引起枯萎病的严重发生^[5]; 国内的一些研究结果也证明了 AM 菌的防病作用, 如胡正嘉等^[6]证明棉花接种摩西球囊霉后, 棉花枯萎病(*Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *vasinfectum*) 的发生程度明显减轻; 唐明等^[7]则证明, 北京杨(*Populus × beijingensis* W. Y. Hsu) 接种摩西球囊霉后, 杨树溃疡病(*Dothiorella gregaria* Succ.) 的发病率明显较轻。尽管人们至今对 AM 菌的抗病机理仍然不十分清楚, 但对病害发生的影响确是存在的。多数人认为, AM 菌对宿主植物抗病性的不同反应, 可能因不同的 AM 菌种、宿主植物、不同病原菌甚至不同环境条件而有所差异, 不能简单地因个别试验而否定 AM 菌的防病作用^[8]。

收稿日期: 2003 05 27

基金项目: 广东省自然科学基金(970771)及中澳合作 ACIAR(9425)项目部分内容之一

作者简介: 弓明钦(1939—), 男, 四川彭州人, 研究员。

由 AM 菌形成的菌根不仅对真菌病害有防治作用,对植物细菌性病害也有一定的防治效果, Halose and Fadjar^[9] 发现, 蕃茄接种 AM 菌后由青枯假单胞杆菌(*Pseudomonas solanacearum* E. F. Smith) 引起的青枯病发病率明显减轻, 但是, 接种 AM 菌后对木本树种青枯病有防治作用的报道却不多见。为探讨 AM 菌对桉树青枯病的防治作用, 以及在生产中应用的可能性, 近年来作者在广州开展了有关试验研究。

1 材料及方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试青枯菌及带菌土 供试青枯病菌(*Pseudomonas solanacearum* E. F. Smith) 纯菌种分离自患病桉树(*Eucalyptus* sp.) 根部, 由华南农业大学林学院森林病理教研组邵志芳女士提供; 用于病害接种的带菌土取自广东省电白县沙院镇的重病林地, 在重病株树下挖取 10~15 cm 深的根际土壤, 将多个点的土样充分混合, 风干后备用。

1.1.2 供试菌根菌 供试 AM 菌有多型球囊霉(*Glomus versiforme* (Karsten) Berch) 9004 菌株; 苏格兰球囊霉(*Glomus caledonium* (Nicol. & Gerd.) Trappe & Gerd.) 3006、6008 菌株。菌种分别引自中国科学院南京土壤研究所, 北京市农林科学院, 中国农业科学院土肥研究所。笔者分别在无菌混合基质中利用白花三叶草(*Trifolium repens* L.) 进行生物繁殖, 4 个月后去其地上茎叶, 收集带根基质, 经风干后保存、备用。为考察抗病效果, 还使用外生菌根菌作为参照, 供试外生菌根菌有漆蜡蘑(*Laccaria laccata* (Fr.: Scop.) Berk. et Br.) 9439 及 4100 菌株, 由澳大利亚 CSIRO 的 N. Malaiczuk 博士等提供, 彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch) 9216 及 99132 菌株, 由本课题组分离自该菌的实体。

1.1.3 供试苗木 供试苗木有尾叶桉(*Eucalyptus urphylla* S. T. Blake) 实生苗和巨尾桉(*E. grandis* W. Hill ex Maiden × *E. urphylla* S. T. Blake) U₆ 组培苗两种。尾叶桉种子经 1%HgCl₂ 溶液消毒 0.5 min, 无菌水冲洗数次, 播种在无菌混合基质^[10] 中, 按常规方法管理, 苗高 3~4 cm 时进行移植。巨尾桉组培苗先从组培瓶中将已生根的幼苗移出, 进行消毒处理后按上述方法进行移植。

1.2 试验方法

1.2.1 青枯菌接种液的配制 将青枯菌纯菌种移入液体培养基中^[11], 在 32 °C, 150 r·min⁻¹ 摇床上振荡培养 48 h, 并配制成 1.9×10^9 个·mL⁻¹ 浓度的细菌悬浮液。用稀释法和平板法^[12] 分别测定细菌含量。试验接种用的风干带菌土, 使用时再加入等量无菌混合基质, 拌匀后供试。

1.2.2 苗木的菌根接种 将培育好的桉树幼苗分别移植到装有无菌混合基质的黑色塑料育苗盘中, 同时接种上述 AM 菌菌剂, 每株苗接种 8 g; ECM 菌液每株接种 2 mL, 按常规管理, 每两周淋施 1% 复合肥(N: P: K= 15: 5: 10) 液 1 次, 不施任何农药, 接种后 3 个月供试。

1.2.3 苗木的病原菌接种 先将培育 3 个月的试验苗从育苗盘中拔出, 用消毒手术刀在根系层表面等量而均匀地切割数刀, 造成人为伤口; 采用病土接种时, 将已有伤口的小苗移植至已装有混合菌土的大塑料袋中, 让带菌土直接与已伤根系接触; 采用菌液法接种时, 将已有伤口的小苗直接浸泡在细菌液中 2 min, 放回塑料育苗盘中再淋菌液 10 mL·株⁻¹, 隔 1 d 后再淋 1 次, 双接种试验则同时使用上述两种方法进行接种。接种的苗木置于 32 °C 温室中, 常规管理, 观测发病情况。

1.2.4 试验及观测 带菌土试验设 4 个处理, 每处理 8 株, 重复 4 次; 青枯菌菌液接种设 4 个处理, 每处理苗木 8 株, 重复 4 次; 巨尾桉的幼苗抗性测定设 6 个处理, 每处理幼苗 5~ 6 株, 重复 4~ 5 次; 接种苗的大田试验设 9 个处理, 分别为 T₁= ECM9216(菌株号, 下同), T₂= ECM4100, T₃= AM6008, T₄= AM3006, T₅= T₁ + T₃, T₆= T₁ + T₄, T₇= T₂ + T₃, T₈= T₂ + T₄, T₉= 对照(不接种), 每处理 30 株, 裂区排列, 重复 4 次。定期测定其生长情况, 计算菌根感染率、发病率及其相关指数等, 计算方法及公式见参考文献[10]。

2 结果与分析

2.1 带菌土接种试验结果

田间带菌土对 3 个月龄尾叶桉 AM 菌根化苗接种的试验结果表明, 使用无菌基质培育的幼苗无论有无 AM 菌接种, 均未发现青枯病的发生; 而在使用带菌土接种的处理中, 经 AM 菌接种的处理未见发病, 而无 AM 菌的处理其发病率达 50% (表 1)。从幼苗生长情况来看, 接种 AM 菌处理的苗木, 其高生长比不接 AM 菌处理的增加 20. 73% ~ 38. 54%; 菌根感染率提高 40%, 感染指数增加 27. 2; 而带菌土与无菌基质接种 AM 菌的处理中, 虽然均未见青枯病的发生, 但在带菌土+ AM 菌的处理中其苗木生长明显受到抑制, 因此, 经 AM 菌接种的桉树幼苗, 确有减轻青枯病发生的作用。

表 1 尾叶桉 AM 菌根化苗的病土接种试验结果

处理	试验株数/株	平均高/cm	平均高比对照增加/%	菌根感染率/%	感染指数 MI	死亡株数/株	萎蔫株数/株	发病率/%	病情指数 D. I.
T ₁ 病土	32	41.0 a	—	0	0	8	8	50 a	32.5
T ₂ 病土+ AM 菌(9004)	32	49.5 b	20.73	28	15.3	0	0	0 b	0
T ₃ 无菌基质	32	46.0 b	12.2	0	0	0	0	0 b	0
T ₄ 无菌基质+ AM 菌(9004)	32	56.8 c	38.54	68	42.5	0	0	0 b	0

试验苗生长过程表明, 从接种 AM 菌之后的第 2 个月开始, 生长开始出现差异, 之后生长差异逐渐加大, 4 个月后苗高生长在各处理间相差 8. 5~ 15. 8 cm; 因此, AM 菌接种对桉树幼苗生长的促进作用也是十分有效的(图 1)。

2.2 尾叶桉菌根化苗对青枯病的防治效果

尾叶桉 AM 菌根化苗接种青枯菌的试验结果表明: 所有经 AM 苗接种的幼苗, 其青枯病死亡率明显低于不接种的对照, 其发病率及病情指数分别降低了 9. 4% ~ 15. 6% 和

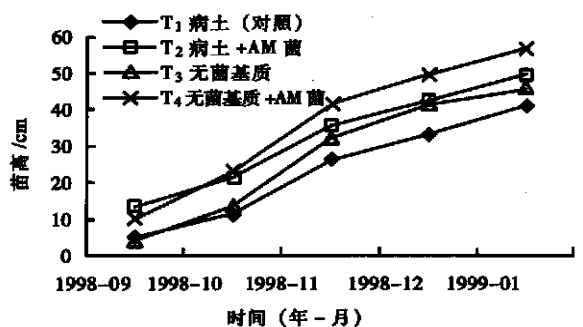


图 1 不同基质条件对尾叶桉幼苗生长的影响

22. 3~ 32. 6(表 2)。从菌根感染情况看, 所有接种 AM 菌的处理均有比较高的感染率, 其中以 AM3006 最高; 然而, 值得注意的是本处理的青枯病发病率及病情指数也比其它两种 AM 菌处理的结果要高, 即是说 AM9004 和 AM6008 两种处理虽然菌根感染率稍低, 但病情指数及死亡率也较低, 抗病效果好。从各处理苗的生长及生物量分析结果来看, 接种 AM 菌的苗生长指标

均优于未接种的对照,其中尤以 AM3006 的效果最好,AM6008 次之,而 AM9004 的增产效果不明显(表 3)。

表 2 尾叶桉实生苗 AM 菌接种试验结果

AM 菌处理	处理株数/ 株	苗木平均高/ cm	苗高比对照 增加/%	菌根感染率/ %	感染指数 M. I	死亡株/ 株	死亡率/ %	病情指数 D. I
AM6008	32	94.13 ^{***}	37.94	63.3	33.0	3	9.4	10.2
AM3006	32	103.00 ^{***}	50.94	76.7	38.5	5	15.6	20.6
AM9004	32	72.63	6.43	56.2	40.2	3	9.4	12.5
CK(不接 AM 菌)	32	68.24	—	9.3	0.0	8	25.0	42.8

注:*** $P < 0.005$

表 3 AM 菌接种尾叶桉苗生物量测试结果

AM 菌处理	平均高 cm	平均地径/ cm	地上干质量/ (g·株 ⁻¹)	地下干质量/ (g·株 ⁻¹)	生物量/ (g·株 ⁻¹)	生物量比对照增加 %
AM6008	94.13 ^{***}	1.01 a	12.91 ^{**}	6.92	19.83 ^{***}	33.45
AM3006	103.00 ^{***}	0.95 a	15.58 ^{**}	5.65	18.23 ^{***}	22.68
AM9004	72.63 b	0.80 b	10.66	5.29	15.95 B	7.31
CK(不接 AM 菌)	68.24 b	0.77 b	9.69	5.17	14.86 b	—

注:*** $P < 0.005$ ** $P < 0.01$

2.3 巨尾按菌根化 U₆ 苗的室内抗性测定结果

本项室内试验除了 AM 菌之外,还选用 ECM 菌的蜡蘑(*Laccaria*) 9439 菌株和豆马勃(*Pisolithus*) 99132 菌株参试,以比较两个类型菌根菌的抗病效果,ECM 菌的接种方法等见参考文献 [11]。室内试验结果表明,AM 菌接种后苗木抗病力显著提高,其中 AM6008 和 AM9004 完全不发病,AM3006 发病率也仅 20%;ECM 菌接种的抗病效果相对较差,尤其是 ECM99132 菌株其发病率比对照还高,其原因除了菌根感染率较低外,可能和菌株本身对病原菌无拮抗作用或拮抗作用较弱有关。因此,就本试验结果来看,AM 菌对青枯病的防治效果优于 ECM 菌,而在 3 个 AM 供试菌中,AM6008 和 AM9004 的抗病效果较好,这个结果与前面的试验结果一致(表 4)。

表 4 巨尾按菌根化组培苗抗病测定结果

菌种处理	接种株数/ 株	菌根感染株/ 株	菌根感染率/ %	感染指数 M. I	死亡株数/ 株	死亡率/ %	病情指数 D. I
AM3006	20	10	50.0	34.5	4 a	20.0	13.3
AM6008	20	12	60.0	32.2	0 a	0.0	0.0
AM9004	20	14	70.0	35.6	0 a	0.0	0.0
ECM9439	30	15	50.0	32.4	12 b	40.0	26.7
ECM99132	30	10	33.3	32.2	24 c	80.0	44.5
CK(不接菌)	30	0	—	—	20 d	66.7	40.8

注:多重比较中,同列字母相同者表示无显著差异(检验水平 0.05)

2.4 AM 菌与 ECM 菌混合接种对青枯病的抗性

采用 AM 菌与 ECM 菌混合对尾叶桉幼苗进行人工接种,3 个月后移入大田造林并进行发病情况观察,造林后 8 个月调查结果表明:所有接种菌根菌处理的苗木平均高与地径均有明显的增长,其中以 ECM4100 和 AM6008×ECM4100 的效果最好,树高比对照增加 16.1%~17.1%,地径增加 15.96%;其次分别为 AM3006×ECM4100、AM6008 及 AM6008×ECM9216 等处理的接

种效果也不错, 树高比对照增长 13.94%~16.10%; 就两种 AM 菌比较而言, AM6008 的促生效果仍然高于 AM3006 的效果; 而 AM3006 以及 AM3006 × ECM9216 等处理的效果差。本试验中双接种的生长效果与单接种的效果相差无异, 仅在发病率上有一些不同, 除了 AM6008 × ECM4100 处理外, 一般综合效果并不理想(表 5)。从田间的发病情况来看, AM 菌同 AM 菌 × ECM 菌双接种的处理其发病率普遍较低, 分别比对照降低 10.0%~17.5%, 而单接 ECM 菌处理的发病率仅降低 3.5%~7.5%, AM 菌对青枯病的抗性优于 ECM 菌。尽管造林的大田发病情况并不是十分均匀或有差异, 但从总体情况来看是有明显防病作用的。

表 5 尾叶桉 AM 和 ECM 双接种

处理	平均树高/ m	平均地径/ cm	树高比对照增长/ %	地径比对照增长/ %	蓄积量/ (m ³ ·hm ⁻²)	发病率/ %
T ₁ (ECM9216)	3.33 [*]	2.47 [*]	16.10	15.69	2.156	17.5
T ₂ (ECM4100)	3.36 [*]	2.29 [*]	17.10	7.50		12.5
T ₃ (AM6008)	3.27 [*]	2.27 [*]	13.94	6.60		7.5
T ₄ (AM3006)	3.00	2.19	4.53	2.82		2.5
T ₅ =T ₁ +T ₃	3.20	2.18	11.50	2.30		5.0
T ₆ =T ₁ +T ₄	3.12	2.33	8.70	9.40		10.0
T ₇ =T ₂ +T ₃	3.36 [*]	2.47 [*]	17.10	15.96		7.5
T ₈ =T ₂ +T ₄	3.31 [*]	2.48 [*]	15.33	16.40		10.0
T ₉ (CK(不接种))	2.87	2.13	—	—	1.419	20.0

注: * * 表示显著性检验水平为 0.05。

3 结果与讨论

(1) AM 菌对青枯病有一定的防治效果, 接种 AM 菌的桉树不发病或者发病较轻, 死亡率较低。就 AM 菌和 ECM 菌比较而言, 接种 AM 菌的桉树实生苗对青枯病的抗性比接种 ECM 菌表现出更强的抗性, 其防病效果优于 ECM 菌。

(2) AM 菌的 6008 菌株和 9004 菌株表现比 AM3006 菌株有更强的抗病作用, 发病率较低甚至不发病, 是抗病的优良菌株, 适合今后大量接种及推广试用。AM3006 菌株对青枯病的抗性较差, 其青枯病的发病率达 20%, 这种情况可能与菌株本身的抗性有关, 也可能是代谢产物或生理过程中抗菌物质少, 其产生的原因还有待进一步研究。

(3) 尽管本研究初步表明供试的 2 种 AM 菌对青枯病有一定防治效果, 但 AM 菌的抗病效益及其机理尚待进一步的深入研究。

(4) AM 菌对桉树生长的促进作用十分明显, 而 AM 菌与 ECM 菌的混合接种对桉树生长也有较好的促生作用; 实践证明, 无论有无青枯病的发生, 在桉树速生丰产林中使用菌根化苗是十分有益的。即“有病防病, 无病促进幼树生长”, 这个观点正被华南地区越来越多的人所接受, 并已在许多地方推广应用。

参考文献:

- [1] Ross J P. Influence of Endogone mycorrhiza on *Phytophthora* rot of soybean[J]. Phytopathology, 1972, 62: 896~897
- [2] 郭秀珍, 李江山, 毕国昌. 泡囊丛枝状(VA)菌根真菌对葡萄组培苗的生长效应[J]. 园艺学报, 1988, 15(2): 77~82
- [3] Schonbeck F, Schinzer U. Investigations of TMV lesion formation in *Nicotiana tabacum* L. var. *xanthine* [J]. Phytopath, 1972, 73: 78~80

- [4] Schonbeck F, Dehne H W. Damage to mycorrhizal and non mycorrhizal cotton seedlings by *Thielaviopsis basicola* [J]. Plant Dis Repr, 1977, 61: 266~ 267
- [5] Dehne H W, Schonbeck F. The influence of the endotrophic mycorrhiza on the fusarial wilt of tomato [J]. Z Pflanzenkr & Pflanzensch, 1975, 82: 630~ 632
- [6] 胡正嘉, 王平. VA 菌根真菌对棉花枯萎病的影响 [J]. 土壤学报, 1994, 31(增刊): 212~ 217
- [7] 唐明, 陈辉. 杨树菌根与溃疡病的关系 [J]. 土壤学报, 1994, 31(增刊): 218~ 223
- [8] 郭秀珍, 毕国昌. 林木菌根及应用技术 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1989. 126~ 131
- [9] 刘润进. VA 菌根与农业生产 [J]. 北京农业科学, 1992, 10(6): 34~ 39
- [10] 弓明钦, 王凤珍, 陈羽, 等. 相思菌根的菌种筛选及其接种效应研究 [J]. 林业科学研究, 2000, 13(3): 268~ 273
- [11] 弓明钦, 陈羽, 王凤珍, 等. 外生菌根对桉树青枯病的防治效应 [J]. 林业科学研究, 1999, 12(4): 339~ 345
- [12] 方中达. 植病研究方法 [M]. 北京: 农业出版社, 1977. 163~ 175

Resistance of the AM Fungus *Eucalyptus* Seedlings against *Pseudomonas solanacearum*

GONG Ming-qin, CHEN Yu, WANG Feng-zhen

(Research Institute of Tropical Forestry, CAF, Guangzhou 510520, Guangdong, China)

Abstract: *Eucalyptus* Seedlings inoculated with AM fungi could increase resistance against *Pseudomonas solanacearum*. While treating with AM fungi, *Eucalyptus* Seedlings could not occur or little occur in wilt disease damage. The results, injected *Pseudomonas solanacearum* bacteria for a series of *Eucalyptus* seedlings, showed that disease percentage of inoculated seedlings decreased by 10.0% ~ 40.0%, and seedling increased by 12% ~ 39% in height growth. AM fungus effectiveness was better than that of ECT mycorrhizal fungi, the isolate AM6008 and AM9004 were better fungi to resist the wilt bacteria, followed by AM3006. Field trial results indicated that mycorrhizal seedlings could improve resistance against the bacteria, and the disease percentage decreased by 10.0% ~ 17.5%, although environmental factors were more different.

Key words: AM fungus; *Pseudomonas solanacearum*; resistance; *Eucalyptus*