

间作药材与接种内生真菌对连作花生土壤微生物区系及产量的影响

戴传超¹, 谢慧¹, 王兴祥^{2,*}, 李培栋¹, 李奕林², 张桃林²

(1. 南京师范大学生命科学学院,南京 210046; 2. 中国科学院土壤环境与污染修复重点实验室(南京土壤研究所),南京 210008)

摘要:利用盆栽试验研究了药用植物间作及接种内生菌拟茎点霉 B3 的菌丝对连作花生 (*Archis hypogaea*) 红壤微生物区系及花生产量的影响,以探索花生连作障碍的生物防治措施。结果表明,药材间作和接种 B3 能够显著减少土壤霉菌数量、增加土壤细菌数量和土壤蔗糖酶活性,增加花生超氧化物歧化酶(SOD 酶)活性和花生产量。与花生单作相比,茅苍术 (*Atractylodes lancea*) / 京大戟 (*Euphorbia pekinensis*) 间作花生产量增加 9%—22%, 接种 B3 处理花生产量增加 24%。茅苍术/京大戟和花生间作处理配合接种 B3 后,花生产量分别较未接种 B3 处理增加 30% 和 4%。其中茅苍术花生间作配合接种 B3 处理的花生产量最高,比对照(P)花生产量高 59%,比单独接种 B3 处理(PB3)的花生产量高 28%;京大戟花生间作配合接种 B3 处理(PEB3)的花生产量比对照增加 13%,但不及单独接种 B3 处理(PB3)。这表明茅苍术间作和接种 B3 具有协同提高花生产量的作用,而京大戟或许对 B3 的功能发挥有一定抑制作用。

关键词:花生;连作障碍;药用植物;间作;内生真菌

The effects of intercropping with medicinal plants and addition of endophytic fungi on soil microflora and peanut yield

DAI Chuanchao¹, XIE Hui¹, WANG Xingxiang^{2,*}, LI Peidong¹, LI Yilin², ZHANG Taolin²

1 College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China

2 Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China

Abstract: The deterioration of soil microflora and the decline of enzyme activity have been regarded as two key factors of the reduction in peanut yield in long-term continual peanut cropping system. To understand soil biological functions in peanut cropping system, a surface layer (0—20 cm in depth) of red soil was sampled from a 15-year-old continuous peanut cropping upland at the Ecological Experimental Station of Red Soil, Chinese Academy of Sciences, located in Yingtan, Jiangxi province (N28°13', E116°55' with an altitude of 45 m ASL), and pot experiments were conducted to investigate the effects of intercropping with medicinal plants and adding endophytic fungi B3 (*Phomopsis* sp.) on soil microflora, saccharase, urease activities, and peanut superoxide dismutase (SOD) activity and peanut yield. The results showed that intercropping with medicinal plants and adding endophytic fungi B3 treatments significantly reduced soil mould colony forming units (CFU), but enhanced bacterium CFU and saccharase activity. The bacteria increase and mould reduction followed the order of *Atractylodes lancea* intercropping peanut with adding B3 treatment (PAB3) > peanut monocropping with adding B3 treatment (PB3) > *Euphorbia pekinensis* intercropping peanut with adding B3 treatment (PEB3) > *A. lancea* intercropping peanut treatment (PA) > *E. pekinensis* intercropping peanut treatment (PE) > control (peanut monocropping, P). Compared to the control (P), soil saccharase activity was significantly increased at flowering pegging stage in the PA and PE treatments. Its increase was greater after adding B3. The highest was observed in the PAB3

基金项目:国家科技支撑计划资助项目(2009BADC6B005);中国科学院知识创新工程重大资助项目(KSCX 1-YW-09);国家自然科学基金资助项目(30970523)

收稿日期:2009-09-02; 修订日期:2010-01-20

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xxwang@issas.ac.cn

treatment combining the intercropping and B3 adding functions. Soil urease activity was also increased significantly after adding B3 (e.g., PB3, PAB3 and PEB3 treatments), although its change was less than soil saccharase activity. As a result, peanut SOD activity and peanut yield were increased significantly in the intercropping with medicinal plants and adding B3 treatments. The peanut SOD activity was the order PAB3 > PEB3 > PB3、PA > PE > P. Compared to the control (P), the PA and PE treatments rose the peanut yield by 9%–22%, while an increase of 24% was in PB3 treatment. Adding B3 increased the yield by 30% and 4% in PAB3 and PEB3 treatments than PA and PE treatments, respectively. Combining the intercropping and B3 adding increased the yield by 59% greater in the PAB3 than in the control (P), but only 13% increase was found in the PEB3 treatment. These results suggested that some synergisms might take place between the intercropping *A. lancea* and addition of B3 for improving peanut yield, while the presence of *E. pekinensis* might inhibit B3 activity to some degree, and its mechanism need more investigation.

Key Words: peanut; medicinal plant; intercrop; continuous monocropping obstacles; endophytic fungi

花生在热带、亚热带和温带地区广泛种植,中国是世界上花生种植面积最大的国家^[1]。长期连续种植花生,可能引起土壤微生物持续恶化,从而导致花生产量持续下降^[2-3]。一般来说,持续单作会引起土壤细菌数量和多样性减少,霉菌数量的增加,真菌种类的减少^[4-8]。由于微生物区系的变化,植物病原菌的拮抗作用减少,同时前茬花生植株残体为病原菌提供了合适的生境,导致病原菌数量大增,因此,连作花生病害十分严重,直接导致花生产量的下降^[5,9]。土壤微生物区系与地上植被组成密切相关,间作、轮作是有效防治连作障碍的重要措施^[3,10-12]。前期通过9种药用植物土壤微生物区系分析,综合考虑药用植物对微生物的影响、对南方红壤地区生长的适应性以及套种花生的可行性,选择了茅苍术(*Atractylodes lancea*)、阔叶麦冬(*Ophiopogon platyphyllum*)、京大戟(*Euphorbia pekinensis*)、半夏(*Pinellia ternata*)和黄姜(*Dioscorea zingiberensis*)等5种抑菌药材与花生进行间作盆栽试验,并根据5种药用植物与花生间作盆栽试验土壤微生物区系变化结果^[6],选择了茅苍术和京大戟用于田间试验。在连作花生土壤上,实施花生+茅苍术/京大戟间作,使小区内土壤霉菌数量分别下降了31%和18%,花生产量增加39%和35%^[13]。广谱内生菌拟茎点霉B3菌株可以促进上述两种药材生长,且添加到水稻土壤及苗床也表现出良好的促进分蘖与促生长作用^[14-17]。因此,本文尝试用拟茎点霉B3菌株与药材联合应用于连作花生土壤,观测土壤微生物区系及花生产量的变化,希望为花生连作障碍的生物防治提出一条新思路。

1 材料与方法

1.1 试验材料

土壤 土壤采集于位于江西省鹰潭市中国科学院红壤生态实验站(北纬28°13',东经116°55')红黏土发育的红壤(10—20 cm),连续种植花生15a。有机质含量13.1 g·kg⁻¹,pH 4.96(1:2.5 H₂O),全N 0.76 g·kg⁻¹,碱解氮2.48 mg·kg⁻¹,速效P(Olsen-P) 14.65 mg·kg⁻¹,速效K 258.40 mg·kg⁻¹,CEC 10.34 cmol kg⁻¹。

花生(*Arachis hypogaea*) 为江西省鹰潭市常规品种赣花5号。

药用植物 茅苍术(*A. lancea*)引种自南京市江宁区汤山镇,京大戟(*E. pekinensis*)引种自安徽省滁州市琅琊山地区,栽培于南京师范大学植物园。

内生真菌 菌种为南京师范大学江苏省生物多样性与生物技术重点实验室保藏菌株,编号B3,为拟茎点霉属(*Phomopsis* sp.)^[14],分离自大戟科重阳木(*Bischofia polycarpa*)茎内皮。内生菌菌种从PDA斜面上转接至新鲜PDA培养基25℃培养7d,倒入无菌水,用接种针将菌丝轻轻刮起,转移入液体马铃薯葡萄糖培养基(PD),250 mL三角瓶中装入50 mL PD培养基,25℃,150 r/min培养6 d,滤纸过滤获得菌丝,蒸馏水洗涤2次,抽滤后备用。

1.2 试验设计

试验共6个处理,10次重复。处理分别为对照(P),花生单作、土壤中不加B3菌丝;花生单作、土壤中添

加 B3 菌丝 (PB3); 花生茅苍术间作 (PA)、土壤中不加 B3 菌丝; 花生茅苍术间作、土壤中添加 B3 菌丝 (PAB3); 花生京大戟间作 (PE)、土壤中不加 B3 菌丝; 花生京大戟间作、土壤中添加 B3 菌丝 (PEB3)。2006 年 4 月初, 将生长 3 年的药材移栽于花盆边缘, 其中京大戟每盆栽 2 株, 茅苍术每盆 1 株。京大戟移栽时为单分蘖, 茅苍术切取根中单芽繁殖块进行移栽。试验盆钵直径 23 cm、高 23 cm, 每盆用土 8.0 kg, 分别施用 1 g 尿素、2 g $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 和 2 g K_2SO_4 。2007 年 3 月初药材出苗, 从上年的单分蘖变成多分蘖, 长势旺盛。4 月 23 日播种花生, 每盆定苗 3 株。5 月 23 日在花生周围土壤中接入 B3 菌丝, 每花盆约 10 g 湿菌丝。保证日照和水分, 8 月 23 日花生收获后保留药材。药材 11 月 30 日地上部分枯死后, 挖取根(药用部位)60℃ 烘干称重。

分别于花生花针期、结荚成熟期测定土壤三大类微生物数量区系、土壤蔗糖酶和脲酶活力; 自接种内生菌 20 d 起, 每隔 10 d 测定花生叶片 SOD 活力至 80 d 结束, 共 7 次; 收获后统计花生初级分蘖数、总分枝数、株高、饱果数、花生荚果产量(干重)和秸秆量(干重)。

1.3 分析方法

土壤微生物的计数 采用稀释平板法分离土壤中的细菌、放线菌、霉菌和酵母菌, 并加以计数。分离细菌用牛肉膏蛋白胨培养基, 放线菌用高氏 1 号培养基, 真菌(霉菌和酵母菌)用马丁氏培养基, 在马丁氏培养基上培养的菌落总数计数为真菌, 将丝状菌形成菌落计为霉菌, 将非丝状菌计数为酵母, 真菌数量为霉菌与酵母菌之和^[18]。

土壤酶活力测定 土壤蔗糖酶活性测定采用 3,5-二硝基水杨酸比色法, 土壤脲酶活性采用苯酚钠比色法^[19-21]。蔗糖酶活性以葡萄糖 mg·g⁻¹ 土, 37℃, 24 h 表示; 脲酶活性以 $\text{NH}_3\text{-N}$ mg·g⁻¹ 土, 37℃, 24 h 表示。

花生植株 SOD 测定: SOD 活力测定采用氮蓝四唑法^[22]。

1.4 数据处理

应用 SPSS 13.0 软件进行方差分析(One-Way ANOVA)检验处理间差异显著性, 并用 Duncan 法($P = 0.05$)进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 药用植物与内生真菌 B3 联合处理对土壤微生物区系的影响

与对照(P)相比, 药材间作处理(PA、PE)和接种 B3 处理(PB3)在花针期和结荚成熟期细菌均显著增加, 霉菌在花针期显著下降, 酵母菌和放线菌略有增加(表 1)。与药材间作处理(PA、PE)相比, 接种 B3 处理(PAB3、PEB3), 细菌数量均进一步增加。这说明, 药材间作和接种 B3 均促进了细菌增加。茅苍术间作配合接种 B3 处理(PAB3)土壤细菌数量比单独接种 B3 处理有显著增加, 霉菌数量显著减少; 而京大戟间作配合接种 B3 处理(PEB3)对土壤细菌增加作用不及 B3 处理(PB3)。从土壤微生物区系变化来看, 茅苍术间作配合接种 B3 的处理, 达到了最佳效果。接种 B3 处理组, 细菌增加效果比药材间作效果好。在同一处理的不同时期, 微生物数量差异显著, 说明在不同生长期, 土壤微生物数量处于较大范围的变化中。以细菌上升, 霉菌

表 1 药材和内生真菌 B3 联合处理对花生土壤微生物区系的影响

Table 1 Effects of medicinal plants and endophytic fungus B3 on soil microbial community

处理 Treatment	细菌 Bacteria		放线菌 Actinomycete		霉菌 Mould		酵母菌 Yeast	
	/(×10 ⁶ CFU·g ⁻¹ DM)		/(×10 ⁶ CFU·g ⁻¹ DM)		/(×10 ⁴ CFU·g ⁻¹ DM)		/(×10 ⁴ CFU·g ⁻¹ DM)	
	I	II	I	II	I	II	I	II
P	7.61 ± 0.60 ^a	5.70 ± 0.24 ^a	3.72 ± 0.20 ^a	0.77 ± 0.03 ^{ab}	8.63 ± 0.99 ^c	5.68 ± 0.28 ^c	0.57 ± 0.63 ^a	0.32 ± 0.12 ^a
PA	8.10 ± 0.25 ^a	7.71 ± 0.45 ^b	4.11 ± 0.12 ^a	0.98 ± 0.02 ^b	3.73 ± 0.11 ^a	4.48 ± 0.12 ^b	0.95 ± 0.59 ^a	0.51 ± 0.04 ^a
PE	9.04 ± 0.08 ^b	6.83 ± 0.24 ^b	3.98 ± 0.48 ^a	0.72 ± 0.11 ^a	4.92 ± 0.25 ^b	5.44 ± 0.28 ^c	0.86 ± 0.95 ^a	0.32 ± 0.12 ^a
PB3	15.4 ± 0.28 ^d	11.0 ± 0.74 ^c	4.61 ± 0.54 ^{ab}	0.85 ± 0.04 ^{ab}	4.00 ± 0.49 ^a	4.72 ± 0.24 ^b	0.77 ± 0.52 ^a	0.47 ± 0.16 ^a
PAB3	16.7 ± 0.36 ^e	13.5 ± 0.52 ^d	5.62 ± 0.49 ^b	0.77 ± 0.05 ^{ab}	3.64 ± 0.13 ^a	3.63 ± 0.21 ^a	1.87 ± 0.43 ^b	0.95 ± 0.21 ^b
PEB3	14.3 ± 0.28 ^c	12.1 ± 0.36 ^c	4.72 ± 0.16 ^{ab}	0.72 ± 0.07 ^a	3.80 ± 0.05 ^a	4.27 ± 0.24 ^b	0.58 ± 0.71 ^a	0.55 ± 0.12 ^a

P: 花生, peanut; A: 茅苍术, *A. lancea*; E: 京大戟, *E. Pekinensis*; B3: 内生菌菌株, for Endophyte strain; I: 花针期 Flowering pegging stage; II: 结荚成熟期 Pod filling stage; 处理间数据比较, 不同字母表示在 0.05 水平上差异显著

下降作为主要指标,处理效果依次是:PAB3 > B3 > PEB3 > PA > PE > P。

2.2 药用植物与内生真菌B3联合处理对土壤酶活性的影响

与对照(P)相比,茅苍术间作处理(PA)花针期和结荚成熟期的土壤蔗糖酶活性显著增加,京大戟间作处理(PE)在花针期略有增加,在结荚成熟期显著增加,接种B3处理(PB3)在花针期和结荚成熟期土壤蔗糖酶活性分别增加24%和33%;药材间作配合接种B3后(PAB3和PEB3处理),较未接种B3的药材间作处理(PA、PE)花针期的土壤蔗糖酶活性分别增加21%和14%,结荚成熟期土壤蔗糖酶活性分别增加27%和13%。接种B3处理组,在花针期和结荚成熟期的土壤蔗糖酶、脲酶活性均显著高于单独药材间作处理组。茅苍术间作配合接种B3处理(PAB3)土壤蔗糖酶活性比单独接种B3处理有显著增加,而京大戟间作配合接种B3处理(PEB3)对土壤蔗糖酶活性增加作用不及B3处理(PB3)。土壤脲酶活性变化相对较小,但在药材间作配合接种B3处理中(PAB3、PEB3)及添加B3处理中表现出显著增加。

表2 药材和内生真菌B3联合处理对花生土壤酶活性的影响

Table 2 Effects of medicinal plants and endophytic fungus B3 on soil enzyme activities

处理 Treatment	蔗糖酶活性 Saccharase/(mg·g ⁻¹ d ⁻¹)		脲酶活性 Urease /(mg·g ⁻¹ d ⁻¹)	
	I	II	I	II
P	3.23 ± 0.07 ^a	5.78 ± 0.79 ^a	0.13 ± 0.01 ^b	0.09 ± 0.01 ^a
PA	3.51 ± 0.13 ^b	6.76 ± 0.65 ^b	0.11 ± 0.01 ^a	0.10 ± 0.01 ^{ab}
PE	3.36 ± 0.04 ^a	6.53 ± 0.87 ^b	0.13 ± 0.01 ^b	0.09 ± 0.01 ^a
PB3	4.00 ± 0.17 ^d	7.66 ± 0.33 ^c	0.15 ± 0.01 ^c	0.10 ± 0.01 ^{bc}
PAB3	4.25 ± 0.12 ^e	8.56 ± 0.43 ^d	0.18 ± 0.01 ^c	0.12 ± 0.01 ^d
PEB3	3.84 ± 0.15 ^c	7.36 ± 0.32 ^{b,c}	0.16 ± 0.01 ^d	0.11 ± 0.01 ^c

P:花生, peanut; A:茅苍术, *A. lancea*; E:京大戟, *E. Pekinensis*; B3:内生菌菌株, for Endophyte strain; I:花针期 Flowering pegging stage; II:结荚成熟期 Pod filling stage; 处理间数据比较, 不同字母表示在0.05水平上差异显著; I:花针期 Flowering pegging stage; II:结荚成熟期 Pod filling stage

2.3 药用植物与内生真菌B3联合处理对花生SOD活力的影响

间作药用植物和接种B3菌后,花生叶片SOD酶活性均较对照有显著的提高,并且联合处理的效果要明显好于单独处理(图1),这对提高花生抗逆性有益。各处理的SOD活性随时间变化趋势基本一致,表现为先上升再下降至逐渐平稳。药材间作配合内生真菌B3处理PAB3和PEB3,均在接B3菌后第40天花生叶片SOD活力达到最大值,其余处理在第30天达到最大值。PB3处理组SOD活力高于PE,和PA组接近。

2.4 药用植物与内生真菌B3联合处理对花生产量及药材生长的影响

药材与花生间作,以及施加B3处理,两种植物均表现出良好长势。对花生生长状况进行统计表明,药材间作和接种B3均有效地促进了花生生长,提高了生物量、花生产量、饱果数、株高、总分枝数及初级分蘖数(表3)。与花生单作(P)相比,药材间作(PA、PE)花生产量增加9%—22%,接种B3处理花生产量增加24%。

茅苍术/京大戟和花生间作处理配合接种B3后(PAB3、PEB3),花生产量分别较未接种B3处理(PA、PE)增加30%和4%。其中茅苍术花生间作配合接种B3处理的花生产量最高,比对照(P)花生产量高59%,比单独接

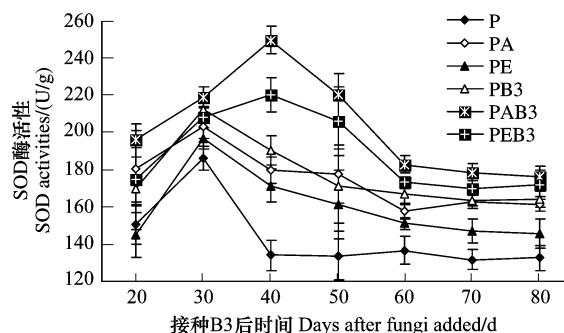


图1 药材和内生真菌B3联合处理对花生SOD活性的影响

Fig. 1 Effects of medicinal plants and endophytic fungus B3 on peanuts SOD activity

P:花生, peanut; A:茅苍术, *A. lancea*; E:京大戟, *E. Pekinensis*; B3:内生菌菌株, for Endophyte strain; I:花针期 Flowering pegging stage; II:结荚成熟期 Pod filling stage; 处理间数据比较, 不同字母表示在0.05水平上差异显著

种B3处理(PB3)的花生产量高28%;京大戟花生间作配合接种B3处理(PEB3)的花生产量比对照增加13%,但不及单独接种B3处理(PB3)。这表明茅苍术间作和B3具有协同提高花生产量的作用,而京大戟对B3的功能发挥有一定抑制作用。这和前面土壤微生物、土壤酶及花生有关抗逆酶指标结果基本一致。

表3 药材和内生真菌B3联合处理对花生农艺性状的影响

Table 3 Effects of medicinal plants and endophytic fungus B3 on peanuts agriculture characters

处理 Treatment	初级分蘖数 Primary tillers	总分枝数 Total tillers	株高 Height/cm	饱果数 Filled pods	产量 Pod yield/g	秸秆 Straw/g
P	3.70 ± 0.82 ^a	24.5 ± 3.56 ^a	29.8 ± 1.24 ^a	20.8 ± 1.83 ^a	17.9 ± 1.51 ^a	17.4 ± 2.74 ^a
PA	4.07 ± 0.96 ^a	30.7 ± 5.64 ^b	31.3 ± 1.78 ^b	24.1 ± 1.82 ^b	21.9 ± 1.41 ^c	23.8 ± 2.19 ^c
PE	3.88 ± 0.93 ^a	26.2 ± 6.22 ^a	35.9 ± 2.02 ^e	22.4 ± 2.64 ^b	19.5 ± 1.31 ^b	20.5 ± 1.54 ^b
PB3	5.11 ± 0.42 ^b	34.8 ± 3.42 ^c	31.8 ± 1.55 ^{bc}	24.2 ± 2.11 ^b	22.3 ± 1.77 ^c	25.7 ± 3.51 ^c
PAB3	5.16 ± 0.93 ^b	38.2 ± 4.97 ^d	33.0 ± 1.21 ^d	28.3 ± 2.45 ^c	28.5 ± 2.68 ^d	29.4 ± 5.1 ^d
PEB3	4.00 ± 0.67 ^a	27.8 ± 5.82 ^{ab}	32.7 ± 1.59 ^{cd}	23.5 ± 2.39 ^b	20.4 ± 2.4 ^b	23.7 ± 3.05 ^c

P:花生, peanut; A:茅苍术, *A. lancea*; E:京大戟, *E. Pekinensis*; B3:内生菌菌株, for Endophyte strain; I:花针期 Flowering pegging stage; II:结荚成熟期 Pod filling stage; 处理间数据比较,不同字母表示在0.05水平上差异显著; *结果为每株花生数据

由于药材为多年生植物,未测定当年净生长量。株高、分蘖数及根生物量的测定结果见表4。京大戟间作接种B3处理(PEB3),京大戟株高、分蘖数和根生物量均超过PE处理组京大戟;茅苍术间作接种B3处理(PAB3),茅苍术株高不及PA处理,分蘖数超过PA处理,但差异均不显著。PAB3处理组茅苍术根生物量小于PA处理组,差异明显,这可能和该处理中花生生长旺盛,挤占了花盆空间和过度吸收营养有关。

表4 药材与花生间作对药材生长的影响

Table 4 Effects of intercropping with peanut and endophytic fungus B3 on growth of medicinal plants

处理 Treatment	株高 Height/cm	分蘖数 Primary tillers/(plant·t ⁻¹)	根生物量 Biomass of roots/(g·plant ⁻¹)
PA	43.9 ± 11.05 ^b	2.9 ± 1.20 ^a	5.94 ± 1.03 ^b
PAB3	34.2 ± 8.74 ^b	3.4 ± 1.83 ^a	4.17 ± 0.96 ^a
PE	56.0 ± 12.5 ^a	3.1 ± 0.99 ^a	5.14 ± 1.15 ^{ab}
PEB3	64.1 ± 18.6 ^a	3.4 ± 1.84 ^a	5.66 ± 1.90 ^b

P:花生, peanut; A:茅苍术, *A. lancea*; E:京大戟, *E. Pekinensis*; B3:内生菌菌株, for Endophyte strain; I:花针期 Flowering pegging stage; II:结荚成熟期 Pod filling stage; 处理间数据比较,不同字母表示在0.05水平上差异显著

3 讨论

内生真菌是生长于植物组织的细胞间,不表现出感染症状的一类真菌。它分布于植物的叶鞘、种子、花、茎、叶和根中,与植物的关系是互惠共生的,一方面植物为内生真菌提供光合产物,另一方面内生真菌的代谢产物能刺激植物的生长发育,提高宿主植物对生物胁迫与非生物胁迫的抵抗能力^[23],两者之间存在物质与能量的循环交流。内生真菌对宿主植物的有益作用是多方面的,如促进植物生长、增加分蘖数^[24-25]、增强植物体内保护酶系统^[26-27]、抗病虫害^[28-29]等。盆栽试验表明,添加B3菌改善了土壤微生物区系,增加了土壤酶活力、提高了花生SOD活性,改善了花生生长势,并提高产量,且接种B3的花生产量高于茅苍术/京大戟+花生间作处理,说明接种合适的微生物制剂(如内生菌)是改善连作土壤微生物区系、缓解花生连作障碍的有效措施。

接种B3对土壤微生物区系的改善作用和花生增产效果可能与下面几种因素有关。B3菌对土壤中多环芳烃(PAHs)污染物萘和菲有很强的降解能力^[30],推测它有可能通过分解黄酮类和酚酸类等花生自毒物质,缓解其自毒作用,促进花生生长;B3菌能分泌较高的IAA和ABA,并能产生大量游离氨基酸、水溶性维生素和脂肪酸^[16],这些都能促进花生生长,增强花生抗逆性;B3菌能分泌漆酶,对秸秆和残茬有很好的降解能力^[24],B3菌的存在可以加速土壤中凋落物和残茬的降解,改变土壤微环境。B3也可能和花生建立共生关系,增强花生抗病能力,促进花生生长。

茅苍术和京大戟两种药用植物分泌多种胞外活性物质,茅苍术的挥发油成分有良好的抑菌效果,京大戟二萜和三萜成分是重要的药物活性成分,也有良好的抑菌作用^[31-32]。药用植物与花生间作,对花生生长的促进作用和其药物活性成分有一定关系。这些活性成分,抑制了土壤中病原菌的生长,促进了有益微生物的生长。由于这两类物质主要都积累在植物根部,随植物根毛、根表表皮进入土壤,造成土壤中这类化合物的积累,从而拮抗病原菌。

另一方面,在药用植物与花生间作处理中,茅苍术、京大戟对土壤微生物区系的调节作用,及对花生生长的促进作用很可能也与药材的共生微生物有关。茅苍术花生间作模式下,内生真菌B3与药用植物的协同促进效果一定程度上支持这种假设。花生与药材间作时,药材叶片中的内生真菌随着叶片的凋落进入土壤,与萜类成分共同拮抗土壤中的病原菌、调节土壤微生物区系,而增加的土壤微生物多样性也可以增加土壤酶活性;并且内生真菌进入土壤后,可以使得花生产生低强度的防御反应,有利于增加花生的抗逆性,这和花生SOD酶活性增加一致。

已有研究表明,在茅苍术组培苗炼苗前加B3到培养基中,往往造成幼苗的死亡。而在炼苗后加入B3菌,则有利于生长。从茅苍术内生菌区系看,其自身内生菌十分丰富,含有和拟茎点霉十分相近的茎点霉属菌种^[33]。拟茎点霉B3很难在茅苍术体内成为优势内生菌。因此,接种B3菌可能主要在根际土壤中与有害微生物起拮抗作用,而进入植物体内发挥作用的可能性较小,具体机制尚有待进一步研究。

京大戟花生间作时配合接种B3处理的增产效果不及茅苍术花生间作时配合接种B3处理,也不及B3单独添加处理,这可能与京大戟对B3有一定抑制作用,二者不能形成良好共生有关;在盆栽条件下,也可能因为京大戟生长茂盛,个体较大,由于生长空间及养分等因素在一定程度上影响了其间作增产效果。

药材与花生间作,以及施加B3处理,两种植物均表现出良好长势。由于本文主要考虑花生连作障碍问题,未设计药材单作处理,难以比较花生+药材间作与药材单作处理中药用植物长势的变化。和前期单独栽培京大戟的研究相比较,间作条件下药材生长未表现出优势^[34]。间作配合施用B3处理的药材长势和花生长势规律不一致,可能由于花盆内空间和营养物质的局限性,花生长势好,药材株高、分蘖数和根生物量反而有所下降。

References:

- [1] Stalker H T. Peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Field Crop Research*, 1997, 53: 205-217.
- [2] Sun X S, Feng H S, Wan S B, Zuo X Q. Changes of main microbial strains and enzymes activity in peanut continuous cropping soil and their interactions. *Acta Agronomica Sinica*, 2001, 27(5): 617-621.
- [3] Wang M Z, Chen X N. Obstacle and countermeasure of sustainable high yield for peanut in low-hilly red soil region. *Journal of Peanut Science*, 2005, 34(2): 17-22.
- [4] Hu Y S, Liu Y F, Wu K, Dou H J, Jia X C. Variation of microbial community structure in relation to successive cucumber cropping soil. *Chinese Journal of Soil Science*, 2006, 37(1): 126-129.
- [5] Li Y M, Hu J C, Zhang J, Wang S L, Wang S J. Microbial diversity in continuously planted Chinese fir soil. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(7): 1275-1278.
- [6] Xie H, Wang X X, Dai C C, Chen J X, Zhang T L. Effects of peanut (*Archis hypogaea*) intercropped with medicinal plants on soil microbial community (briefing). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(3): 693-696.
- [7] Xu R F, Wang X L. Relation of microbial population dynamics and nutrient in soil of continuous cropping with peanut. *Journal of Peanut Science*, 2003, 32(3): 19-24.
- [8] Ryszkowski L, Szajdak L, Karg J. Effects of continuous cropping of rye on soil biota and biochemistry. *Critical Reviews in Plant Science*, 1998, 17: 225-244.
- [9] Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini MT, Landi L, Pietramellara G, Renella G. Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science*, 2003, 54: 655-670.
- [10] Acosta-Martinez V, Upchurch D R, Schubert A M, Porter D, Wheeler T. Early impacts of cotton and peanut cropping systems on selected soil chemical, physical, microbiological and biochemical properties. *Biology and Fertility of Soils*, 2004, 40: 44-54.
- [11] Chu G X, Shen Q R, Cao J L. Nitrogen fixation and N transfer from peanut to rice cultivated in aerobic soil in an intercropping system and its effect on soil N fertility. *Plant and Soil*, 2004, 263: 17-27.
- [12] Inal A, Gunes A, Zhang F, Cakmak I. Peanut/maize intercropping induced changes in rhizosphere and nutrient concentrations in shoots. *Plant Physiology and Biochemistry* 2007, 45: 350-356.
- [13] Dai C C, Xie H, Wang X X, Li P D, Zhang T L, Li Y L, Tan X. Intercropping peanut with traditional Chinese medicinal plants improves soil microcosm environment and peanut production in subtropical China. *African Journal of Biotechnology*, 2009, 8(16): 3739-3746.

- [14] Yuan Z L, Dai C C, Li X, Tian L S, Wang X X. Extensive host range of an endophytic fungus affects the growth and physiological functions in rice (*Oryza sativa* L.). *Symbiosis*, 2007, 43: 21-28.
- [15] Dai C C, Yu B Y, Dong C, Jiang J H. The rapid propagation of medicinal plant *Euphorbia pekinensis*. *Guihaia*, 2005, 25(2): 152-155.
- [16] Yuan Z L, Dai C C, Shi Y, Wang A Q, Zhang D Z. The mechanism that endophytic fungi B3 stimulate the growth of rice. *Jiangsu Agricultural Science*, 2004, 2: 10-13.
- [17] Yuan Z L, Dai C C, Li X, Tian L S, Yang Q Y. The physiological character changes and resistance to rice blast by inoculating with endophytic fungi B3. *Jiangsu Agricultural Science*, 2005, 3: 10-13.
- [18] Institute of Soil Science of Chinese Academy of Sciences. *Soil Microbiology Research Methods*. Beijing: Science Press, 1985: 85-176.
- [19] Guan S Y. *Soil Enzyme and Its Research Method*. Beijing: Agriculture Press, 1986: 274-297.
- [20] Ross D J. Assays of invertase activity in acidic soils: Influence of buffers. *Plant and Soil*, 1987, 97: 285-289.
- [21] Gianfreda L, Sannino F, Ortega N, Nannipieri P. Activity of free and immobilized urease in soil: effects of pesticides. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26: 777-784.
- [22] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutases occurrence in higher plants. *Plant Physiology*, 1977, 59: 309-314.
- [23] Yuan Z L, Dai C C, Chen L Q. Regulation and accumulation of secondary metabolites in plant-fungus symbiotic system. *African Journal of Biotechnology*, 2007, 6 (11): 1266-1271.
- [24] Shi Y, Dai C C, Wu Y C, Yuan Z L. Study on the degradation of wheat straw by endophytic fungi. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2004, 24(1): 144-149.
- [25] Nan Z B. Effects of *Acremonium* endophyte on the growth of *Hordeum bogdanii*. *Pratacultural Science*, 1996, 13(1): 16-18.
- [26] Chen S P, Gao Y B, Liang Y, Ren A Z. Effects of endophyte infection on protective enzyme activities in leaves of *Lolium perenne* under water stress. *Chinese Journal of Applied Environmental Biology*, 2001, 7(4): 348-354.
- [27] Wu A M, Gu B K, Fu Z Q, Jiang Z F. Mechanism of controlling cotton verticillium wilt with endophytic Bacterium 73a. *Jiangsu Journal of Agricultural Science*, 2002, 18(1): 48-51.
- [28] Blankenship J D, Spiering M J, Wilkinson H H, Fannin F F, Bush L P, Schardl C L. Production of loline alkaloids by the grass Endophyte, *Neotyphodium*, in defined media. *Phytochemistry*, 2001, 58 (3): 395-401.
- [29] Reddy P V, Lam C K, Belanger F C. Mutualistic fungal endophytes express a proteinase that is homologous to proteases suspected to be important in fungal pathogenicity. *Plant Physiology*, 1996, 111(4): 1209-1218.
- [30] Tian L S, Dai C C, Zhao Y T, Zhao M, Yong Y H, Wang X X. The degradation of phenanthrene by endophytic fungi *Phomopsis* sp. single and co-cultured with rice. *China Environmental Science*, 2007, 27(6): 757-762.
- [31] Ji L, Ao P, Pan J G, Yang J Y, Yang J, Hu S L. GC-MS Analysis of Essential Oils from Rhizomes of *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. and *A. chinensis* (DC.) Koidz. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2001, 26(3): 182-185.
- [32] Liang Q L, Dai C C, Jiang J H, Tang Y P, Duan J A. A new cytotoxic casbane diterpene from *Euphorbia pekinensis*. *Fitoterapia*, 2009, 80: 514-516.
- [33] Chen J X, Dai C C, Li X, Tian L S, Xie H. Endophytic fungi screening from *Atractylodes lancea* and inoculating into the host plantlet. *Guihaia*, 2008, 28 (2): 256-260.
- [34] Yong Y H, Dai C C, Gao F K, Yang Q Y, Zhao M. Effects of endophytic fungi on growth and two kinds of terpenoids for *Euphorbia pekinensis*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2009, 40(7): 1136-1139.

参考文献:

- [2] 孙秀山, 封海胜, 万书波, 左学青. 连作花生田主要微生物类群与土壤酶活性变化及其交互作用. *作物学报*, 2001, 27(5): 617-621.
- [3] 王明珠, 陈学南. 低丘红壤区花生持续高产的障碍及对策. *花生学报*, 2005, 34(2): 17-22.
- [4] 胡元森, 刘亚峰, 吴坤, 窦会娟, 贾新成. 黄瓜连作土壤微生物区系的变化研究. *土壤通报*, 2006, 37(1): 126-129.
- [5] 李延茂, 胡江春, 张晶, 汪思龙, 王书锦. 杉木连栽土壤微生物多样性的比较研究. *应用生态学报*, 2005, 16(7): 1275-1278.
- [6] 谢慧, 王兴祥, 戴传超, 陈佳昕, 张桃林. 花生与药材套种对土壤微生物区系的影响. *应用生态学报*, 2007, 18(3): 693-696.
- [7] 徐瑞富, 王小龙. 花生连作田土壤微生物群落动态与土壤养分关系研究. *花生学报*, 2003, 32(3): 19-24.
- [15] 戴传超, 余伯阳, 董晨, 蒋继宏. 药用植物大戟的快速繁殖研究. *广西植物*, 2005, 25 (2): 152-155.
- [16] 袁志林, 戴传超, 史央, 王安琪, 张德珍. 内生真菌 B3 促进水稻生长的机理研究. *江苏农业科学*, 2004, 2: 10-13.
- [17] 袁志林, 戴传超, 李霞, 田林双, 杨启银. 水稻接种内生真菌 B3 后生理特性的变化及对稻瘟病的抗性研究. *江苏农业科学*, 2005, 3: 61-63.
- [18] 中国科学院南京土壤研究所. *土壤微生物研究法*. 北京: 科学出版社, 1985: 85-176.
- [19] 关松荫. *土壤酶及其研究法*. 北京: 农业出版社, 1986: 274-297.
- [24] 史央, 戴传超, 吴耀春, 袁志林. 植物内生真菌强化还田秸秆降解的研究. *环境科学学报*, 2004, 24(1): 144-149.
- [25] 南志标. 内生真菌对布顿大麦草生长的影响. *草业科学*, 1996, 13(1): 16-18.
- [26] 陈世萍, 高玉藻, 梁宇, 任安芝. 水分胁迫下内生真菌感染对黑麦草叶内保护酶系统活力的影响. *应用与环境生物学报*, 2001, 7(4): 348-354.
- [27] 吴蔼民, 顾本康, 傅正擎, 蒋正峰. 内生菌 73a 防治棉花黄萎病机理. *江苏农业学报*, 2002, 18(1): 48-51.
- [30] 田林双, 戴传超, 赵玉婷, 赵沫, 勇应辉, 王兴祥. 一株内生真菌单独及与水稻联合降解菲的研究. *中国环境科学*, 2007, 27 (6): 757-762.
- [31] 吉力, 敖平, 潘炯光, 杨京玉, 杨健, 胡世林. 苍术挥发油的气相色谱-质谱联用分析. *中国中药杂志*, 2001, 26(3): 182-185.
- [33] 陈佳昕, 戴传超, 李霞, 田林双, 谢慧. 茅苍术内生真菌的分离鉴定及在组培苗中的回接. *广西植物*, 2008, 28 (2): 256-260.
- [34] 勇应辉, 戴传超, 高伏康, 杨启银, 赵沫. 大戟内生真菌对其生长和两种萜类物质质量的影响. *中草药*, 2009, 40(7): 1136-1139.