

王赞源,张伟,程虹,等.灵芝连作障碍机制研究[J].黑龙江农业科学,2020(9):87-90.

# 灵芝连作障碍机制研究

王赞源,张 伟,程 虹,曹榕容,何功琼,张志强,马 尧  
(吉林农业科技学院,吉林 吉林 132109)

**摘要:**为解决灵芝连作障碍有关土壤微生物数量变化引起的问题,以栽培过灵芝的3个不同年限的土壤(1,2,3年)以及未种植过灵芝的土壤(0年)为对照,通过土壤稀释法将其分别在选择性培养基中进行培养,对其数量变化进行分析。结果表明:药剂处理的土壤栽培灵芝品质好于未进行药剂处理土壤栽培的灵芝品质;与未进行药剂处理未栽培过灵芝的小区土壤上的灵芝相比在品级分布上相差不大;药剂处理的土壤栽培的灵芝生长情况好于未经药剂处理的土壤。

**关键词:**灵芝;土壤微生物;连作障碍

灵芝(*Ganoderma lucidum* Karst.)又称林中灵、琼珍,隶属于担子菌亚门层菌纲无隔担子菌亚纲多孔菌目灵芝菌科灵芝属<sup>[1]</sup>,是一种药用高温喜湿型真菌的子实体,具有补气安神、止咳平喘、延年益寿的功效。野生灵芝资源数量有限,远不能够满足市场日益增长的需求,因此,国内外人工栽培灵芝的规模越来越大,而在此过程中,灵芝连作障碍的影响愈加突出,因而灵芝连作障碍解决方法的探索也愈加重要<sup>[2-5]</sup>。本研究通过文献查询和实际经验所得其主要影响因素应为土壤方面,因此本项目旨在通过对栽培灵芝不同年限的

土壤中微生物种群的变化为研究依据,提出和探索其解决措施。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验所需的4个年份的土壤样品为吉林农业科技学院灵芝栽培基地的土壤,依照年份为没有栽培灵芝的土壤标记为L0、栽培灵芝1年的土壤标记为L1、栽培灵芝2年的土壤标记为L2、栽培灵芝3年的土壤标记为L3,各种土壤均采集自灵芝菌段周围深0~3 cm。

供试药物为克菌丹(河北冠龙农化有限公司),辛硫磷(瑞隆化工有限公司)。

提前制备好选择性培养基,并倒好平板,在培养基的选择上参考马红梅等<sup>[1]</sup>试验内容。培养细菌选择牛肉膏蛋白胨培养基、培养真菌选择PDA培养基、培养放线菌选择高氏一号培养基。

收稿日期:2020-06-09

基金项目:吉林省大学生科技创新项目(吉农院合字【2019】第008号)。

第一作者:王赞源(1997-),男,在读学士,专业为中草药栽培和鉴定。E-mail:634285419@qq.com。

通信作者:马尧(1963-),女,硕士,教授,从事药用植物生理和栽培教学及研究。E-mail:634285419@qq.com。

## Effects of Cutting Medium and Cutting Length on Rooting of *Tetrastigma hemsleyanum*

FANG Fang<sup>1,2</sup>, QIU Zhi-min<sup>1,2</sup>, WANG Song<sup>1,2</sup>, FAN Zheng-wen<sup>1,2</sup>

(1. Taizhou Bureau of Natural Resources and Planning, Taizhou 318000, China; 2. Taizhou Forestry Technology Extension Station, Taizhou 318000, China)

**Abstract:** In order to further improve the artificial cultivation technology of *Tetrastigma hemsleyanum*, different cutting media and cutting specifications were used to compare the rooting of *Tetrastigma hemsleyanum*. The results showed that 10-12 cm was the most suitable cutting length, and the rooting effect was the best in the medium of perlite:peat=1:2.

**Keywords:** substrates; cutting; *Tetrastigma hemsleyanum*

## 1.2 方法

1.2.1 试验设计 在栽培过灵芝一年的土地上进行试验,共设置9个小区,每个小区的面积为 $2\text{ m}^2$ ,其中用药剂处理土地分别标记为Z1、未用药剂处理土地分别标记为Z2、未种植过灵芝的土壤没有药剂处理土地标记为Z3,每个土地各设3个重复。灵芝栽培时每平方米种植16个菌段。

大棚消毒。在正式种植前对整体的大棚环境进行消毒,用2%的石灰水喷洒墙面、土地、过道以及大棚外围部分。

土样稀释。每个年限的土样均需稀释到 $1 \times 10^6$ ,因此试验分4次进行,每次提前准备好装有9 mL 无菌水的带塞无菌试管6个。

土壤处理。杀虫剂选择的是辛硫磷,杀菌剂选择的是克菌丹,根据产品推荐施用剂量进行稀释,喷施到土壤中。在施完杀虫剂和杀菌剂后,覆盖上地膜用土压实,使其进行一段时间的发酵,时间为3 d。

灵芝种植。发酵时间结束后,开始进行灵芝栽培,在起好的垄上开沟,每个沟开好,施入适量的生石灰,覆盖要均匀,接着每列放置4个灵芝菌段,共开沟8列。

生长期管理及数据记录。温度保持在 $20 \sim 30\text{ }^\circ\text{C}$ ,空气湿度保持在 $70\% \sim 90\%$ ,浇水时应是水呈雾状或雨状喷洒于大棚的空气中,禁止对着灵芝直接浇水。

1.2.2 测定项目及方法 土壤中微生物种群的计数。参考文献[1]中的方法,稀释得到 $1 \times 10^6$ 的土壤悬浮液,标记备用。

稀释液接种后放入 $27\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中培养,根据各微生物生长状态不同,在不同的时期进行观察记录其数目,细菌为 $2 \sim 3\text{ d}$ 、真菌为 $3 \sim 4\text{ d}$ 、放线菌为 $7\text{ d}$ 。

定期观测灵芝生长的物候变化。

灵芝收获时,测其收获率及干重(在 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 下烘干),将所收获的灵芝进行分级,分级标准如下:

特级:菌柄长 $1.2 \sim 1.5\text{ cm}$ ,菌盖中心厚 $1.8\text{ cm}$ 以上,菌盖直径 $15 \sim 25\text{ cm}$ ,单生;

一级:菌柄长 $2.0\text{ cm}$ 以下,菌盖中心厚 $1\text{ cm}$

以上,菌盖直径 $5\text{ cm}$ 以上,单生;

二级:菌盖中心厚 $1\text{ cm}$ 以上,菌盖直径 $5\text{ cm}$ ,单生有少许共生;

等外品:菌盖直径 $5\text{ cm}$ 以下,单生,大量弹射过孢子粉的也属等外品;

所有试验各项处理均设3次重复。

1.2.3 数据分析 试验数据采用SPSS 18.0软件进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 灵芝不同栽培年限土壤微生物种群数

从表1可知,未栽培灵芝的土壤(L0)与栽培灵芝2年土壤(L2)、栽培灵芝3年土壤(L3)中的细菌数量差异显著;栽培灵芝1年(L1)与栽培灵芝3年土壤(L3)中的细菌数量差异显著。说明土壤栽培灵芝年限越长,栽培灵芝的土壤中细菌数量越少;未栽培灵芝的土壤(L0)与栽培灵芝3年土壤(L3)中的真菌数量差异显著,说明栽培灵芝年限越长,栽培灵芝的土壤中真菌数量越多;未栽培灵芝的土壤(L0)与栽培灵芝土壤中的放线菌数量差异显著,随着灵芝栽培年限的增加土壤中放线菌的数量没有一定变化规律。从以上不同年限栽培灵芝的土壤中看到,土壤栽培灵芝年限越长,栽培灵芝的土壤中细菌数量越少、真菌数量越多、放线菌的数量差异不显著。灵芝连续种植土壤中真菌数量逐渐变多,也是引起灵芝连作障碍的主要原因。

表1 不同年限栽培灵芝土壤中三大微生物种群数量变化

Table 1 Changes of the three microbial populations in the soil of *Ganoderma lucidum* cultivated in different years ( $10^5\text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ )

组别 Groups	细菌数量 Number of bacteria	真菌数量 Number of fungi	放线菌数量 Number of actinomycetes
L0	450.00±60.00 a	0.23±0.13 b	13.97±2.70 a
L1	380.00±78.00 ab	0.59±0.41 ab	4.40±0.20 b
L2	283.33±65.06 bc	0.83±0.62 ab	7.47±2.65 b
L3	236.67±66.60 c	1.45±0.60 a	6.17±1.55 b

注:不同小写字母表示在0.05水平差异显著。下同。

Note: Different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 level. The same below.

## 2.2 不同试验地种植灵芝生长情况

5 个时间点测定灵芝菌盖直径均差异显著,表明药剂处理有利于灵芝的生长。

2.2.1 Z1 地种植灵芝生长变化 由表 2 可知,随着生长的时间延长,灵芝菌盖直径逐渐增大,

表 2 Z1 灵芝菌盖生长变化和方差分析

Table 2 Growth change and variance analysis of *Ganoderma lucidum* in Z1

日期/(月-日) Date/ (month-day)	直径 Diameter/cm	N	标准差 Standard deviation	方差 Variance	全距 Full range	极小值 Minimum value	极大值 Maximum value
06-18	2.980±1.090 e	10	1.09016	1.188	3.60	0.90	4.50
06-30	4.300±1.209 d	10	1.20922	1.462	3.40	2.50	5.90
07-04	5.510±1.169 c	10	1.16947	1.368	4.00	3.00	7.00
07-09	6.740±0.919 b	10	0.91918	0.845	2.70	5.30	8.00
07-14	9.508±1.037 a	10	1.03697	1.075	3.70	7.50	11.20
总计 Total	5.8076	50	2.48521	6.176	10.30	0.90	11.20

2.2.2 Z2 地种植灵芝生长变化 在 Z2 的生长初期萌发小菌蕾后,因多种病害的发生,如绿霉菌、白毛菌、棕色菌等,而导致 Z2 试验区的灵芝生长出现断层式变化,在记录期间没有得到其数据。

直径做多重比较,从不同时间点测定 Z3 小区处理栽培灵芝生长情况方差看出,7 月 14 日测定的灵芝菌盖直径与 7 月 9 日测定的灵芝菌盖直径差异显著,二者分别与 6 月 18 日、6 月 30 日、7 月 4 日测定灵芝菌盖直径差异显著。6 月 18 日、6 月 30 日和 7 月 4 日测定灵芝菌盖直径差异不显著。表明随着时间的延长,灵芝菌盖生长逐渐增大,且差异显著。

2.2.3 Z3 地种植灵芝生长变化 Z3 小区是未经过药剂处理未栽培过灵芝的土壤,在其上栽培灵芝,观察灵芝生长情况。由表 3 可知,随着生长的时间延长,灵芝菌盖直径逐渐增大,对灵芝菌盖

表 3 Z3 灵芝菌盖生长变化及方差分析

Table 3 Growth change and variance analysis of *Ganoderma lucidum* in Z3

日期/(月-日) Date/ (month-day)	直径 Diameter/cm	N	标准差 Standard deviation	方差 Variance	全距 Full range	极小值 Minimum value	极大值 Maximum value
06-18	2.35±0.67 c	10	0.67206	0.452	2.10	1.20	3.30
06-30	2.98±0.73 c	10	0.73303	0.537	2.00	2.00	4.00
07-04	3.67±0.93 c	10	0.93339	0.871	2.90	2.30	5.20
07-09	8.01±1.93 b	10	1.93302	3.737	7.00	5.00	12.00
07-14	10.4±2.11 a	10	2.10966	4.451	7.50	7.00	14.50
总计 Total	5.4980	50	3.49241	12.197	13.30	1.20	14.50

## 2.3 灵芝的分级试验

从表 4 可知,Z1、Z2、Z3 小区收获的灵芝中各随机抽取 50 支灵芝,根据上述灵芝分级标准,进

行灵芝分级检测,其中 Z1 区特级品所占比例为 6%、一级品所占比例为 88%、二级品所占比例为 6%、无等外品;Z2 区无特等品、一级品所占比例

为86%、二级品所占比例为14%、无等外品;Z3区特级品所占比例为4%、一级品所占比例为90%、二级品所占比例为6%、无等外品。结果表明,药剂处理的土壤栽培灵芝品质好于未进行药剂处理土壤栽培的灵芝品质;与未进行药剂处理未栽培过灵芝的小区土壤上的灵芝相比在品级分布上相差不大。

表4 Z1、Z2、Z3种植灵芝收获分级情况

Table 4 Harvest classification of *Ganoderma lucidum* cultivated in Z1, Z2 and Z3

处理 Treatments	特级品 Super grade product	一级品 First grade product	二级品 Second grade product	等外品 Inferior product
Z1	3	44	3	0
Z2	0	43	7	0
Z3	2	45	3	0

### 3 结论

本试验结果表明,土壤栽培灵芝年限越长,土壤中细菌数量越少,真菌数量越多,放线菌没有明显变化。药物处理土壤对栽培灵芝生长影响方面,随着时间的延长,灵芝菌盖直径逐渐增大,表

明药剂处理有效。药剂处理的土壤栽培灵芝品质好于未进行药剂处理土壤栽培的灵芝品质;而与未进行药剂处理未栽培过灵芝的小区土壤上的灵芝相比在品级分布上相差不大;药剂处理的土壤栽培的灵芝生长情况好于未经药剂处理的土壤。

因此本试验研究结果表明对灵芝连作土壤进行药剂处理具有较为明显的效果,灵芝连作障碍可能是由土壤中微生物数量的变化造成的,尤其是真菌影响灵芝的生长,成为连作的主要障碍,药剂处理可以消除灵芝连作障碍。

### 参考文献:

- [1] 马红梅,李小兵,符浩,等.灵芝连作障碍的土壤微生物种群特性及其生物防治初探[J].河南农业科学,2014,43(3):53-58.
- [2] 何志刚,王秀娟,董环,等.日光温室辣椒连作不同年限土壤微生物种群变化及酶活性研究[J].中国土壤与肥料,2013(1):38-42.
- [3] 胡元森,刘亚峰,吴坤,等.黄瓜连作土壤微生物区系变化研究[J].土壤通报,2006,38(1):126-129.
- [4] 张雪艳,高丽红,李元,等.栽培模式对黄瓜连作温室土壤酶活性及相关养分的影响[J].内蒙古农业大学学报(自然科学版),2007,28(3):113-117.
- [5] 马红梅,陈永敢,徐小雄,等.灵芝连作障碍的土壤微生态研究[J].山东农业大学学报(自然科学版),2013,44(4):539-542.

## Study on Obstacle Mechanism of *Ganoderma lucidum* Continuous Cropping

WANG Zan-yuan, ZHANG Wei, CHENG Hong, CAO Rong-rong, HE Gong-qiong, ZHANG Zhi-qiang, MA Yao

(Jilin Institute of Agricultural Science and Technology, Jilin 132109, China)

**Abstract:** In order to solve the problem caused by the quantity change of soil microorganism in the continuous cropping obstacle of *Ganoderma lucidum*, the soil with three different years of cultivation (1, 2 and 3 years) and the soil without *Ganoderma lucidum* (0 years) as the control. The soil dilution method was used to culture them in selective medium respectively, and the quantitative changes were analyzed. The results showed that, the quality of *Ganoderma lucidum* cultivated in the soil treated with chemicals was better than that cultivated in the soil without chemical treatment; the grade distribution of *Ganoderma lucidum* cultivated in the soil with chemical treatment was similar to that in the plot soil without chemical treatment; the growth of *Ganoderma lucidum* cultivated in the soil with chemical treatment was better than that in the soil without chemical treatment.

**Keywords:** *Ganoderma lucidum*; soil microorganisms; continuous cropping obstacle