

AM 真菌对沙田柚组培苗炼苗期水分生理及生长效应的研究*

杨蓉¹, 郑钦玉¹, 薛华清², 杨晓红³

(1. 西南大学 农学与生物科技学院, 重庆 400716; 2. 重庆交通科研设计院, 重庆 400067;
3. 西南大学 园艺园林学院, 重庆 400716)

摘要 对沙田柚组培苗移栽时接种 AM 真菌, 从试验当天起定期采样对根系的 AM 真菌侵染情况和叶片的相对水分含量、光合参数、叶绿素含量、ABA 含量、脯氨酸含量及植株茎和根系的 N、P、K 含量等进行测定。结果表明: 1) AM 真菌侵染沙田柚组培苗根系过程非常迅速; 2) 接种 AM 真菌有利于提高沙田柚组培苗植株叶片叶绿素含量, 增强光合产物的生产能力, 有利于提高植株叶片的蒸腾速率和气孔导度, 显著降低叶片 ABA 含量增加的速度, 减轻植株受水分胁迫的程度, 有利于植株更有效地吸收水分, 显著提高叶片相对水分含量, 促进幼苗的生长, 提高幼苗的抗旱能力; 3) 接种 AM 真菌有利于沙田柚对 N、P 的积累, 其中又以 P 含量的提高尤为明显, 促进组培苗的生长发育, 使植株的鲜重显著增加, 茎鲜重增加尤为显著。研究认为接种 AM 真菌的方法简单易行, 有助于沙田柚度过干旱早期而提高种植沙田柚的经济效益, 可在重庆市大面积推广使用。

关键词 AM 真菌; 沙田柚; 水分胁迫; 抗旱; 生长发育

中图分类号 S666.3

文献标识码 A

文章编号 1672-6693(2009)02-0115-05

丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungus, 简称 AM 真菌)是广泛存在于自然生态系统中的一类真菌, 其能与绝大多数的高等植物(主要是草本植物及少部分木本植物)形成共生体系^[1], 并可以提高植物在逆境如缺 P、干旱等条件下的生存能力^[2]。干旱是一个世界性问题, 关于 AM 真菌与植物水分关系方面的研究目前已受到国内外有关研究者的重视。多数人将 AM 真菌的接种时间选择在组培苗的驯化培育阶段(炼苗期), 因为此时接种 AM 真菌对组培苗的生长与养分吸收具有积极的促进作用, 在提高组培苗移栽成活率、加快驯化进程等方面十分有益^[3]。用 AM 真菌接种宿主植物组培苗, 可显著提高组培苗移栽存活率及生物量, 同时也减少了化学合成品的施用^[4-6]。沙田柚在我国柚类资源中占有不可取代的地位, 其种植面积占柚类种植总面积的一半以上。重庆市夏季气温高, 干旱频发而严重, 对沙田柚生产十分不利。由于沙田柚生长对 AM 真菌有很高的依赖性, 且 AM 真菌也可提高沙田柚果实的品质^[7], 故本文以重庆市长寿区沙田柚为研究对象, 通过对其组培苗炼苗期接种 AM 真菌, 研究 AM 真菌对沙田柚水分生理及生长效应, 为有效解

决重庆市各区县沙田柚抗旱问题提供新思路, 并为有关促进沙田柚生长发育方面的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料处理

供试 AM 真菌菌种为摩西球囊霉(*Glomus mosseae*)和珠状巨孢囊霉(*Gigaspora margarita*)混和菌种, 购于美国西弗吉尼亚大学国际菌种保藏中心。供试土壤基质为菜园土与珍珠岩混合配制的营养土, 两者混合的体积比为 3:1, 使用前经高压灭菌 2 h。菌根真菌接种方法为: 在育苗容器(底部有孔的塑料钵, 7.5 cm × 8.5 cm × 5.0 cm)大小内装入灭菌的土壤基质, 达 3/4 容器高度。用 1/2 浓度的 Hoagland 营养液湿润基质, 在每个基质表面均匀接种 100 g 含有摩西球囊霉和珠状巨孢囊霉的三叶草菌根根段、根外菌丝和约 4 000 个 AM 真菌孢子的混和菌剂, 再加入 2 mL 大约含有 180 ~ 200 个 AM 真菌孢子的悬浮液, 作为补充接种剂, 再将接种剂用相同营养土覆盖。

试验采用对长寿沙田柚组培实生幼苗炼苗期接种 AM 真菌(试验组)和不接种 AM 真菌(对照组)

* 收稿日期 2008-08-26 修回日期 2008-10-29

资助项目: 重庆市农业综合开发办公室资助(No. 2004CQD0005)

作者简介: 杨蓉, 女, 硕士研究生, 研究方向为区域生态与可持续发展, 通讯作者: 郑钦玉, E-mail: zqy19606026@sina.com。

两个处理,其具体方法为:在温室条件下,选300株生长约30 d左右,苗高约5 cm并有5~6片真叶的较整齐一致的健康组培苗,将根用蒸馏水洗净后,随机分为两组,各150株。将移植到含有摩西球囊霉和珠状巨孢囊霉混和接种剂的塑料容器内作试验组,移植到不接种的容器中作对照组。两组材料均为每盆1株,且两组材料随机摆放于温室大棚中。将所有组材料保持在土温25~27℃、气温22~27℃、光合光子通量 $1\ 000\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、光照16 h的温室条件下生长。温室的平均最低和最高相对湿度分别为62%和82%。所有的容器苗每周施肥一次,每次施用100 mL营养液,其中每次的P施用量为 $11\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

1.2 指标测定及数据分析

从试验当天起定期采样,采样日期为第0、4、6、8、12、16、20、24、28和32 d。每次采样时,每处理组随机采12株幼苗,每株幼苗从上往下取第三、第四、第五片真叶用作试验,设6个重复。同时,每处理组随机采6株幼苗,取根尖先端长约2 cm的根段,每处理组观察16条根尖,4次重复。根系中AM真菌侵染情况的测定参考Phillips和Hayman的方法^[8],叶片的相对水分含量的测定参考任安芝等人的方法^[9],叶绿素含量测定方法为何若轲的方法^[10],ABA含量测定参见文献^[11],叶片光合速率、气孔导度和蒸腾速率测定参见文献^[12],叶片脯氨酸含量参见文献^[13]。其中叶片ABA含量和脯氨酸含量测定到第24 d结束,第32 d测定植株生长情况的叶片数、叶面积、株高、茎和根系的鲜重及植株茎和根系的N、P、K含量^[14]。

测定所得数据用平均值 \pm 标准误(Mean \pm SE)表示,用SPSS13.0统计软件对数据进行有关统计分析。

2 结果与分析

2.1 接种AM真菌的侵染过程

由图1可见,沙田柚组培苗炼苗期接种AM真菌后,试验组观察到大量AM真菌的侵染。侵染的过程非常迅速,随着接种天数的增加菌根侵染率也不断地增加。菌根侵染率在接种后的前16 d增加得较快,以后增加的速度逐渐减缓并基本达到稳定。

2.2 对叶片相对水分含量的影响

试验结果表明(图2),沙田柚组培苗移栽到温室后的前8 d,试验组和对照组的幼苗叶片相对水分

含量都遭受一个急剧下降的水分胁迫阶段,但试验组叶片含水量显著高于对照组($p < 0.05$);12 d以后,叶片相对水分含量均稳定在90%以上。这表明接种AM真菌的幼苗能明显降低水分胁迫对幼苗的伤害,提高幼苗的抗旱能力。

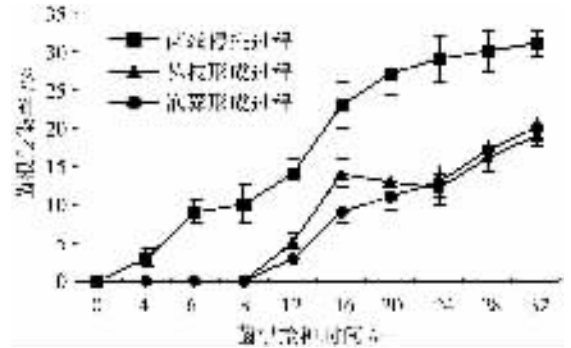


图1 AM真菌对沙田柚组培苗根的侵染过程

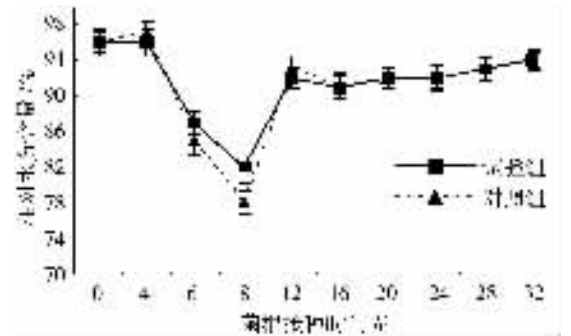


图2 接种AM真菌对叶片相对水分含量的影响

2.3 对叶片蒸腾作用的影响

图3显示,沙田柚组培苗移栽到温室后,从接种到度过水分胁迫整个过程中,试验组幼苗叶片的蒸腾速率和气孔导度基本上都高于对照组。当幼苗经历水分胁迫高峰时,试验组和对照组幼苗叶片的蒸腾速率分别为 0.018 、 $0.014\ \text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$;气孔导度分别为 0.20 、 $0.16\ \text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。这表明AM真菌有利于提高植株叶片的蒸腾速率和气孔导度,使植株更有效地吸收水分,提高植株的相对含水量,减轻植株受水分胁迫的程度。

2.4 对叶片光合作用的影响

从图4可见,幼苗从移栽到第8 d光合速率非常低,移栽当天仅 $4.1\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,当幼苗在脱水高峰即第8 d时,试验组幼苗叶片的光合速率显著高于对照组($p < 0.05$)。试验结束时,试验组和对照组的幼苗叶片的光合速率比移栽时分别增加了3.9和3.5倍,表明沙田柚组培苗接种AM真菌有利于提高沙田柚水分胁迫阶段叶片的光合速率。

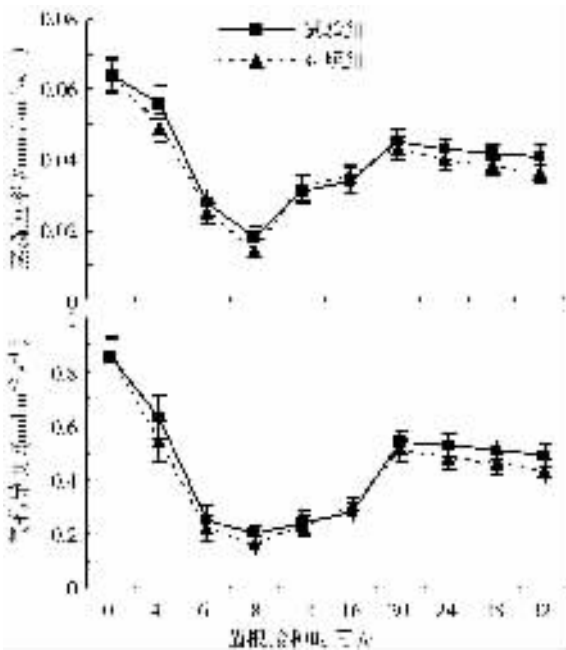


图 3 接种 AM 真菌对叶片蒸腾作用的影响

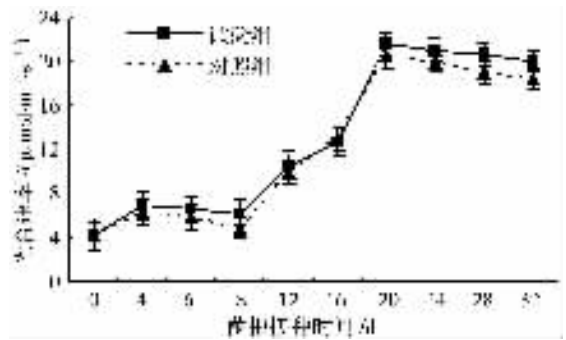


图 4 接种 AM 真菌对叶片光合作用的影响

2.5 对叶片叶绿素含量的影响

经历水分胁迫阶段后,实验组的叶片叶绿素含量显著高于对照组($p < 0.05$),表明 AM 真菌有利于提高植株正常水分条件下的叶绿素含量,增强光合产物的生产能力,促进幼苗生长。但是在水分胁迫阶段,AM 真菌对幼苗的叶绿素含量作用不明显(图 5)。

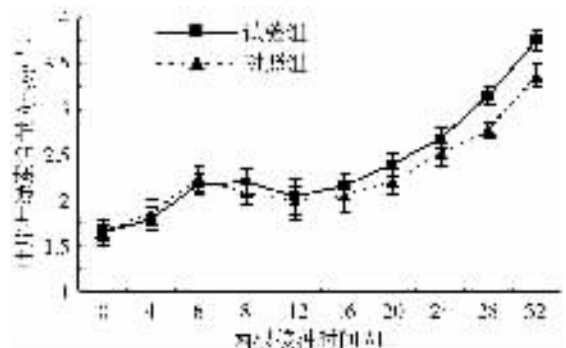


图 5 接种 AM 真菌对叶片叶绿素含量的影响

2.6 对叶片 ABA 和脯氨酸含量的影响

试验结果表明(图 6 和图 7),当幼苗移栽后的 24 d 内,叶片都检测到有 ABA 和脯氨酸;当幼苗经历水分胁迫高峰(接种后第 8 d)时,试验组和对照组幼苗叶片的 ABA 和脯氨酸含量急剧上升。但是试验组幼苗叶片的 ABA 和脯氨酸含量显著低于对照组($p < 0.05$);水分胁迫解除后,试验组的仍保持比对照组的低。这表明沙田柚组培苗接种 AM 真菌能显著提高植株的耐水分胁迫程度,减轻幼苗遭受水分胁迫的影响。

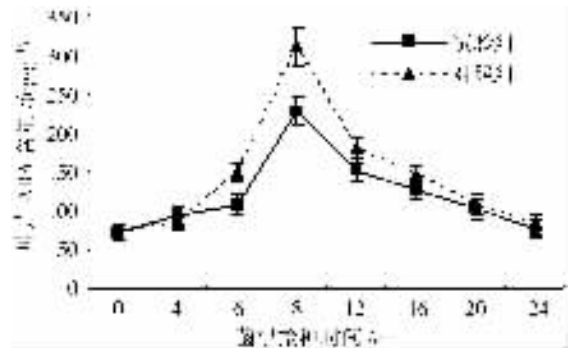


图 6 接种 AM 真菌对叶片 ABA 含量的影响

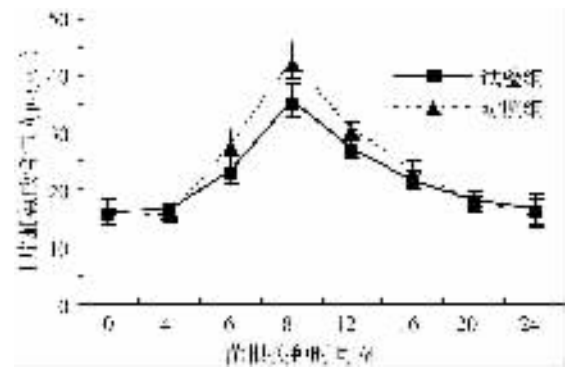


图 7 接种 AM 真菌对叶片脯氨酸含量的影响

2.7 对植株 N、P、K 含量的影响

试验结果表明(表 1),沙田柚组培苗炼苗期接种 AM 真菌对植株的矿质养分积累有重要作用,试验组的茎和根系的 N、P 含量显著高于对照组,其中 P 含量的提高尤为明显。试验组的幼苗 K 含量与对照组的幼苗相比差异不显著,表明 AM 真菌对沙田柚组培苗的 N、P 吸收有促进作用,但是对 K 的积累作用不明显。

2.8 对植株生长效应的影响

由表 2 可见,AM 真菌能显著促进沙田柚组培苗的生长发育,使植株的鲜重显著增加,茎鲜重增加尤为显著,根系鲜重增加不明显,导致植株根冠比降低。AM 真菌对植株的高度也有显著的促进作用,使植株叶片数和叶面积显著增加,图 8 直观地反映

了这一状况。

表1 接种 AM 真菌对沙田柚组培苗 N、P、K 含量的影响 %

元素	茎		根系	
	试验组	对照组	试验组	对照组
N	2.48 ± 0.23 ^a	2.05 ± 0.21 ^b	2.77 ± 0.20 ^a	2.12 ± 0.25 ^b
P	0.19 ± 0.026 ^a	0.07 ± 0.028 ^b	0.07 ± 0.028 ^b	0.085 ± 0.012 ^b
K	0.85 ± 0.14	0.79 ± 0.15	1.02 ± 0.13	1.01 ± 0.17

注:上标不同字母表示试验组与对照组数据间有显著性差异($p < 0.05$),下同。

表2 接种 AM 真菌对沙田柚组培苗生长效应的影响

生长指标	试验组	对照组
茎鲜重/g	3.91 ± 0.22 ^a	2.45 ± 0.18 ^b
根系鲜重/g	1.62 ± 0.17	1.39 ± 0.23
株高/cm	13.54 ± 0.51 ^a	10.68 ± 0.60 ^b
根冠比	0.41 ± 0.12 ^a	0.57 ± 0.08 ^b
叶片数/片	12.36 ± 1.31 ^a	9.15 ± 0.75 ^b
叶面积/cm ²	1.81 ± 0.23 ^a	1.27 ± 0.19 ^b

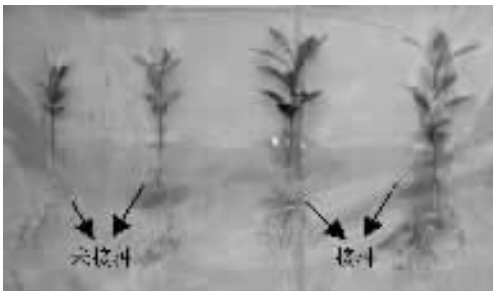


图8 未接种和接种 AM 真菌沙田柚组培苗外形对比

3 讨论

AM 真菌的侵染沙田柚组培苗的过程与其他学者研究的结果类似,但是不同的是,丛枝和泡囊产生的时间不同。例如,熊丙全在丛枝菌根真菌对葡萄苗木侵染^[15]时,在接种 2 周时少量菌丝侵入,侵染率较低,丛枝开始形成,没有泡囊产生,直到接种 4 周时才有少量胞间泡囊,在第 5 周时进入持续侵染时期。本试验在第 4 d 产生丛枝,在第 6 d 产生泡囊,在第 12 d 后增加的速度逐渐减缓并达到稳定。经过比较,其有所差别的原因可能是研究中温度和湿度不同,采用的营养液不同,另外采用的植物材料不同。这说明不同的材料和不同的环境会造成 AM 真菌的侵染过程有差异,但是都会有经过了一个迅速增加然后逐渐减缓并基本达到稳定的一个过程。

目前关于丛枝菌根提高植物抗旱性的途径有:1)菌丝对水分的直接吸收作用——干旱条件下菌丝可利用根系无法利用的土壤水分,改善植株水分状况,提高植株抗旱性;2)通过菌丝吸收养分,如增

加 P、Zn 等元素吸收量来改善植株营养水平,促进植株的生长,增大根系吸收面积;3)丛枝菌根通过改变植物内源激素平衡状况来间接影响植物的水分代谢,提高植株的抗旱性^[16]。这些都在本研究中得到了很好验证。本实验中组培苗移栽后的前几天都要经历一个相对水分含量急剧下降的水分胁迫阶段,此期间幼苗通过增加 ABA、脯氨酸的含量^[17],降低气孔导度和蒸腾速率等来避免植株的过分脱水。沙田柚组培苗受水分胁迫期间,AM 真菌能帮助提高相对含水量,促进幼苗的生长,增强幼苗的抗旱能力。这与前人的研究结果一致^[18-19]。但是对沙田柚组培苗接种 AM 真菌菌种的方法,优良菌种的选择,以及 AM 真菌如何帮助沙田柚苗抗旱的机理需进一步研究。

本试验表明接种了 AM 真菌的沙田柚组培苗,在炼苗期有利于对矿质营养的吸收以及叶绿素含量增加,光合速率有显著提高;叶片的光合能力提高;植株的鲜重显著增加,茎鲜重增加尤为显著,导致植株根冠比降低,有利于促进幼苗的生长。与前人研究相似^[20]。另外,本试验中沙田柚组培苗接种 AM 真菌对 N、P 积累均有显著的增强作用,其中 P 含量的提高尤为明显。这体现出了 AM 真菌改善植物的矿质养分、改善组培苗对矿质养分的吸收^[21]的功能,导致植株的矿质养分增加和光合能力增强促进其生长发育的功能。但是 AM 真菌如何帮助沙田柚苗提高植株对矿质养分的吸收的机理还有待进一步研究。重庆市夏季气温高、旱灾频发,特别是 2006 年夏季特大干旱给重庆市各区县水果生产造成极大影响。从本研究可见,接种 AM 真菌可以提高沙田柚自身抗旱性,有利于沙田柚度过干旱期;并且,接种 AM 真菌的方法简单易行,可提高种植沙田柚的经济效益,因此这一方法可在重庆市大面积推广使用。

参考文献:

- [1] Smith F A, Smith S E. Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbioses [J]. *Plant Soil*, 1991, 137: 373-388.
- [2] Auge R M, Foster J G, Loescher W H, et al. Symplastic mobility of free amino acid and sugars in a rose root with regard to va mycorrhizae and drought [J]. *Symbiosis*, 1992, 12: 1-17.
- [3] 王真辉. 菌根真菌在植物组培苗生产技术中的应用 [J]. *热带农业科学* 2001(5): 70-78.
- [4] Budi S W, Cordier C, Trouvelot A, et al. Arbuscular mycorrhiza as a way of promoting sustainable growth of micro-

- propagated plants[J]. *Acta Horticulturae* ,1998 ,457 :71-77.
- [5] Yano-melo A M ,Saggin O J ,Lima J M. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on acclimatization of micro-propagated banana plantlets[J]. *Mycorrhiza* ,1999 9(2) :119-123.
- [6] Arias F ,Blanco F ,Vargas R. Evaluation of infectivity of arbuscular mycorrhiza in micropropagated banana plants(*Musa AAA cv. Valery*) during greenhouse and nursery phases [J]. *CORBANA* ,1999 25(52) :173-188.
- [7] 杨晓红 ,罗安才 ,李道高 ,等. 大田接种 AM 真菌对成年结果柑桔果实品质的影响[J]. *西南园艺* ,2002 30(S1) :7-9.
- [8] Phillips M ,Hayman D S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhiza fungi for rapid assessment of infection[J]. *Transactions of British Mycological Society* ,1970 55 :158-161.
- [9] 任安芝 ,高玉葆 ,李侠. 内生真菌感染对黑麦草若干抗旱生理特征的影响[J]. *应用与环境生物学报* ,2002 ,8(5) 535-539.
- [10] 何若韫. 叶绿素含量测定[J]. *新农业* ,1980(3) 31-32.
- [11] 张志伟. 植物生理学实验指导[M]. 第3版. 北京 :高等教育出版社 ,2003 :195-197.
- [12] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京 :中国农业出版社 ,2000 :1-191.
- [13] 瞿伟菁. 现代植物生理学试验指南[M]. 北京 :科学出版社 ,1999 :184-206.
- [14] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京 :中国农业出版社 ,2000 :1-495.
- [15] 熊丙全. 丛枝菌根真菌对葡萄苗木生长及其抗旱效应影响的研究[D]. 重庆 :西南农业大学 ,2005.
- [16] Dutra P V ,Abad M ,Almela V et al. Auxin interaction with the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* Schenck & Smith improves vegetative growth of two rootstocks[J]. *Scientia Horticulturae* ,1996 66 :77-83.
- [17] 汤章城. 游离脯氨酸与高粱苗的抗旱性[J]. *植物生理学通讯* ,1986(3) 29-31.
- [18] 贺学礼 ,赵丽莉 ,李生秀. 水分胁迫及丛枝菌根接种对绿豆生长的影响[J]. *核农学报* ,1999 ,14(5) 290-294.
- [19] 刘润进. VA 菌根对湖北海棠实生苗水分状况的影响[J]. *莱阳农学院学报* ,1989 1(1) 34-39.
- [20] 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 :1-305.
- [21] 唐振尧 ,万兆良. 菌根接种对柑桔磷素营养和生长效应研究[J]. *土壤学报* ,1980 ,17(4) 336-347.

Influences of AM Fungi on Growth and Water Ecophysiology of Grouped Shatian Pomelo During Cultivating and Training Periods

YANG Rong¹ , ZHENG Qin-yu¹ , XUE Hua-qing² , YANG Xiao-hong³

(1. College of Agronomy and Biotechnology , Southwest University , Chongqing 400716 ;

2. Chongqing Communications Research and Design Institute , Chongqing 400067 ;

3. College of Horticulture and Landscape Architecture , Southwest University , Chongqing 400716 , China)

Abstract : Young plants of Shatian pomelo shaddock are inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi during transplantation. From the commencement of the experiment , the condition of the arbuscular mycorrhizal fungi in the root-system , the comparative water content of the leaf blade , the parameters of the photosynthesis , the content of the chlorophyll , ABA , praline and the N , P , K content of stem and roots are sampled periodically. The results show that the course of AM fungi infection is very fast and inoculating arbuscular mycorrhizal fungi to young plants increases the concentration of chlorophyll , strengthens the whole output of photosynthesis and raises the transpiration rate of leaf and stomatal conductance. Meanwhile it decreases the ABA content of leaf , and also abates the level of plant water pressure. What is more , it can absorb the water effectively , enhance the comparative water content , promote the growth of seedlings and improve ability of seedling to resist draught. In the mean time , inoculating arbuscular mycorrhizal fungi to young plants will facilitate the accumulation of N , P (especially improve the content of P) , speed up the growth of young plants , increase live weight of seedling , especially on stem. In addition , arbuscular mycorrhizal fungi inoculation method is simple. It can obviously help Shatian pomelo through the drought period and improve the economic benefits , This approach can be used in a large area in Chongqing city.

Key words : arbuscular mycorrhizal fungi ; Shatian pomelo ; water stress ; draught-resistance ; growth