

# 枳实生苗抗旱丛枝菌根真菌菌种比较的研究

吴强盛<sup>1,3</sup> 王幼珊<sup>2</sup> 夏仁学<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>华中农业大学园艺林学学院, 湖北武汉 430070; <sup>2</sup>北京市农林科学院植物营养与资源研究所, 北京 100089; <sup>3</sup>长江大学园艺园林学院, 湖北荆州 434025)

**摘 要:** 盆栽条件下研究丛枝菌根真菌 *Glaucus versiforme*, *G. mosseae*, *G. geosporum*, *G. diaphanum* 和 *G. etunicatum* 对正常水分和水分胁迫下的枳实生苗水分代谢的影响。结果表明, 在正常水分和水分胁迫下接种丛枝菌根真菌都明显增加植株的生长, 提高叶片可溶性糖、可溶性淀粉、可溶性蛋白质以及根系可溶性糖的含量。叶片超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶活性增强, 从而提高了植株的抗旱性。正常水分下以接种 *G. versiforme* 的效果最好, 水分胁迫下以接种 *G. mosseae* 的效果最好。

**关键词:** 枳; 实生苗; 丛枝菌根真菌; *Glaucus mosseae*; 水分胁迫

**中图分类号:** S 666 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2006) 03-0613-04

## Comparison of Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Drought Resistance of Trifoliate Orange ( *Poncirus trifoliata* L. Raf ) Seedlings

Wu Qiangsheng<sup>1,3</sup>, Wang Youshan<sup>2</sup>, and Xia Renxue<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup> College of Horticulture and Forestry, Huazhong Agricultural University, Wuhan, Hubei 430070, China; <sup>2</sup> Institute of Plant Nutrition and Resources, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100089, China; <sup>3</sup> College of Horticulture and Gardening, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China)

**Abstract:** The effect of *Glaucus versiforme*, *G. mosseae*, *G. geosporum*, *G. diaphanum* and *G. etunicatum* on water relations of trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf ) seedlings was studied in potted culture under well-watered and water stress conditions. Arbuscular mycorrhizal inoculations increased the plant biomass and biological morphological characteristics under well-watered and water stress conditions. Soluble sugar in leaves and roots, soluble starch in leaves, and soluble protein in leaves were enhanced by arbuscular mycorrhizal inoculations under two water regimes conditions. Moreover, mycorrhizal seedlings had higher superoxide dismutase, peroxidase and catalase activities in leaves. Thus, the drought resistance of mycorrhizal seedlings was enhanced. Inoculation with *G. versiforme* showed the greatest effects under well-watered conditions and inoculated with *G. mosseae* the greatest effects under water stress conditions.

**Key words:** Trifoliate orange; Seedling; Arbuscular mycorrhizal fungi; *Glaucus mosseae*; Water stress

### 1 目的、材料与方法

柑橘根系根毛极少且短, 对丛枝菌根真菌的依赖性极强, 且主要以球囊霉属 (*Glaucus*) 的真菌为主<sup>[1, 2]</sup>。丛枝菌根真菌对柑橘没有专一性, 但柑橘对菌根的依赖性变异很大。枳是我国柑橘栽培中使用的主要砧木之一, 其根系浅, 抗旱性较差, 因此选择一个较为高效的抗旱菌种十分必要; 丛枝菌根对柑橘保护酶活性的研究尚未见报道, 丛枝菌根真菌是否对柑橘叶片保护酶活性产生影响从而调节柑橘的抗旱性也值得探讨。

取黄壤、蛭石和珍珠岩, 按 6:2:1 体积混合, 作为试验基质, 121℃ 灭菌 2 h。取枳种子, 70% 酒

收稿日期: 2005-06-20; 修回日期: 2005-08-18

基金项目: 国家科技部科技促进三峡移民开发专项资助项目 (2003EP090018; 2004EP090019)

\* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: renxuexia@mail.hzau.edu.cn)

精表面消毒 15 min, 蒸馏水冲洗数次后放置于垫有湿润滤纸的培养皿中, 于 28℃ 进行暗培养。7 d 后将种子播于装有 4.010 kg 试验基质的塑料盆 (15 cm × 20 cm) 中。供试丛枝菌根真菌为 *Glomus versiforme* (Karsten) Berch, *G. mosseae* (Nicol & Gerd) Gerdemann & Trappe, *G. geosporum* (Nicol & Gerd) Walker, *G. diaphanum* Morton & Walker, *G. etunicatum* Becker & Gerdemann, 均由中国丛枝菌根真菌种质资源库 (BGC) 提供。

试验设接种 *G. versiforme*, *G. mosseae*, *G. geosporum*, *G. diaphanum*, *G. etunicatum* 和不接种丛枝菌根真菌 (Non-AMF) 6 个处理。2004 年 3 月 11 日播种, 接种处理的每盆接入约 700 个孢子。每处理于 6 月 15 日开始不同水分管理, 土壤相对含水量分别控制在 75% ~ 80% (正常水分, WW) 和 55% ~ 60% (水分胁迫, WS), 每天通过称重法控制。整个试验共 12 个处理, 每处理重复 5 次, 随机区组排列, 每盆栽植 6 株枳实生苗, 共 60 盆。试验在华中农业大学果树标本园的塑料大棚完成。9 月 6 日采收植株。

常规方法测定植株株高、茎粗、叶片数、地上部干样质量、地下部干样质量、植株干样质量和叶面积。菌根侵染率依照 Phillips 等<sup>[3]</sup>的方法测定。菌根依赖性参考 Bagyaraj<sup>[4]</sup>的计算方法。叶片和根系可溶性糖、可溶性淀粉、可溶性蛋白质、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 和过氧化氢酶 (CAT) 分别采用蒽酮比色法、G-250 法、氮蓝四唑 (NBT) 法、愈创木酚法和分光光度法测定。叶片相对含水量 (RWC) 采用 Estrada-Luna 等<sup>[5]</sup>的方法测定。所有试验数据运用 SAS (8.1) 软件 ANOVA 过程进行处理间差异显著性测验, 采用 LSD 法作多重比较分析。

## 2 结果分析与讨论

### 2.1 两种土壤水分下 5 种丛枝菌根真菌对枳实生苗菌根侵染率的影响

水分胁迫明显抑制丛枝菌根真菌对枳实生苗的侵染 (图 1)。正常水分和水分胁迫下枳实生苗菌根侵染率均以 *G. mosseae* 接种的最高, *G. diaphanum* 接种的最低, 其他 3 种菌种居中。*G. mosseae* 接种的枳实生苗菌根发育最好, 可能是在柑橘土壤中, *G. mosseae* 发生频率较高<sup>[2]</sup>, 因此 *G. mosseae* 能与枳实生苗形成很好的共生关系。

### 2.2 两种土壤水分下 5 种丛枝菌根真菌对枳实生苗干物质和菌根依赖性的影响

从表 1 可知, 接种均明显提高了地上部干样质量、地下部干样质量和植株干样质量, 其中在正常水分和水分胁迫下分别以 *G. versiforme* 和 *G. mosseae* 接种的效果最好。正常水分下枳实生苗对不同菌

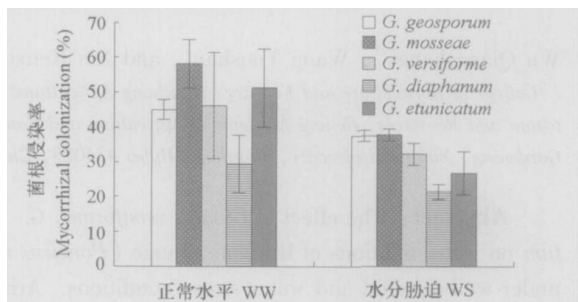


图 1 两种土壤水分下 5 种丛枝菌根真菌对枳实生苗菌根侵染率的影响

Fig. 1 Effect of five *Glomus* species on mycorrhizal colonization on trifoliate orange seedlings under well-watered (WW) and water stress (WS) conditions

表 1 两种土壤水分下 5 种丛枝菌根真菌对枳实生苗干物质和菌根依赖性的影响

Table 1 The effect of five *Glomus* species on dry matter and mycorrhizal dependency on trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) seedlings under well-watered (WW) and water stress (WS) conditions

接种 Inoculation	地上部干样质量 Shoot dry mass (g · plant <sup>-1</sup> )		地下部干样质量 Root dry mass (g · plant <sup>-1</sup> )		植株干样质量 Plant dry mass (g · plant <sup>-1</sup> )		菌根依赖性 Mycorrhizal dependency (%)	
	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS
<i>G. geosporum</i>	0.70 a	0.52 ab	0.53 bc	0.48 ab	1.22 b	1.00 ab	38	43
<i>G. mosseae</i>	0.76 a	0.64 a	0.58 b	0.59 ab	1.35 ab	1.23 a	44	54
<i>G. versiforme</i>	0.98 a	0.50 a	0.76 a	0.46 b	1.74 a	0.95 b	56	40
<i>G. etunicatum</i>	0.78 a	0.60 ab	0.62 ab	0.54 ab	1.40 ab	1.14 ab	46	50
<i>G. diaphanum</i>	0.75 a	0.46 b	0.51 bc	0.48 b	1.25 b	0.94 b	39	39
Non-AMF	0.39 b	0.26 c	0.37 c	0.31 c	0.76 c	0.57 c	0	0

注: 同一列数字后跟不同小写字母表示差异显著 (LSD 分析,  $P < 0.05$ )。下同。

Note: Different letters following the data within each column mean significant difference at 0.05 level (LSD analysis). The same below.

种的依赖性大小顺序为: *G. versiforme* > *G. etunicatum* > *G. mosseae* > *G. diaphanum* > *G. geosponum*; 水分胁迫下的依赖性顺序是: *G. mosseae* > *G. etunicatum* > *G. geosponum* > *G. versiforme* > *G. diaphanum*。

### 2.3 两种土壤水分下 5 种丛枝菌根真菌对枳实生苗生物学形态特征的影响

接种处理均显著增加了枳实生苗的株高、茎粗和叶片数 (见表 2)。正常水分下接种 *G. versiforme* 的枳实生苗茎粗最高, 接种 *G. etunicatum* 的株高和叶片数最高, 接种 *G. mosseae* 的叶面积最高。水分胁迫下接种 *G. etunicatum* 的枳实生苗株高和叶片数数值最高, 接种 *G. mosseae* 的茎粗数值最高, 接种 *G. versiforme* 和 *G. mosseae* 叶面积较高。

表 2 两种土壤水分下 5 种丛枝菌根真菌对枳实生苗生物学形态特征的影响

Table 2 The effect of five *Glomus* species on biological morphological characteristics on trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) seedlings under well-watered (WW) and water stress (WS) conditions

接种 Inoculation	株高 Plant height (cm)		茎粗 Stem diameter (cm)		叶片数 Leaf number per plant		叶面积 Leaf area (cm <sup>2</sup> )	
	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS
<i>G. geosponum</i>	30.45 bc	21.82 b	0.316 ab	0.267 a	29.2 b	22.8 b	2.45 a	1.51 ab
<i>G. mosseae</i>	33.80 bc	26.83 a	0.301 b	0.281 a	32.5 ab	29.2 a	2.56 a	1.76 a
<i>G. versiforme</i>	35.72 ab	21.85 b	0.338 a	0.262 a	34.7 a	25.5 ab	2.21 a	1.77 a
<i>G. etunicatum</i>	39.87 a	28.52 a	0.320 ab	0.262 a	36.5 a	29.5 a	2.07 ab	1.65 a
<i>G. diaphanum</i>	28.90 c	20.60 b	0.302 ab	0.256 a	29.2 b	22.3 b	1.74 b	1.64 a
Non-AMF	19.07 d	13.82 c	0.244 c	0.208 b	21.8 c	16.3 c	1.70 b	1.10 b

### 2.4 两种土壤水分下 5 种丛枝菌根真菌对枳实生苗可溶性物质的影响

表 3 表明, 接种处理均显著增加了叶片可溶性糖含量。在根系中, 除 *G. diaphanum* 以外其他 4 种菌种的接种都显著增加了可溶性糖含量, 正常水分下以 *G. versiforme* 和 *G. etunicatum* 接种的叶片可溶性糖含量较高, 水分胁迫下接种 *G. mosseae* 的叶片和根系可溶性糖含量最高。水分胁迫下枳实生苗叶片可溶性糖的累积率有所降低, 而根系中大多增长。这可能因为接种株受到水分胁迫时丛枝菌根需要消耗一部分光合产物供自身生长, 接种处理的根系与未接种的相比形成了一个更强大的库, 从而导致水分胁迫产生的叶片可溶性糖的累积很大部分转移给根系。水分胁迫对 *G. mosseae* 接种的枳实生苗根系可溶性糖的累积率最大 (42%), 说明 *G. mosseae* 较其他菌种在枳实生苗上成为抗旱菌种的可能性更大。尽管水分胁迫下丛枝菌根真菌的接种没有影响叶片可溶性淀粉含量, 但正常水分下 5 种菌种的接种显著增加了叶片可溶性淀粉含量; 除 *G. diaphanum* 外其他 4 种菌种的接种均显著提高了根系可溶性淀粉含量。丛枝菌根真菌的接种显著增加了水分胁迫下叶片可溶性蛋白质含量, 但正常水分下仅 *G. versiforme* 和 *G. etunicatum* 接种的有显著影响。在正常水分和水分胁迫下分别以 *G. versiforme* 和 *G. mosseae* 接种的可溶性淀粉和可溶性蛋白质含量最高, *G. diaphanum* 接种的最低。

表 3 两种土壤水分下 5 种丛枝菌根真菌对枳实生苗可溶性物质的影响

Table 3 The effect of five *Glomus* species on soluble matters on trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) seedlings under well-watered (WW) and water stress (WS) conditions (%)

接种 Inoculation	可溶性糖 Soluble sugar				可溶性淀粉 Soluble starch				叶片可溶性蛋白质 Leaf soluble protein	
	叶片 Leaf		根系 Root		叶片 Leaf		根系 Root		WW	WS
	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS		
<i>G. geosponum</i>	8.48 a	9.39 a	7.56 ab	9.01 b	8.97 a	9.38 a	7.41 b	8.87 ab	31.38 ab	27.49 a
<i>G. mosseae</i>	9.12 a	9.87 a	7.58 a	10.74 a	9.05 a	10.01 a	8.37 ab	9.95 a	29.95 bc	29.04 a
<i>G. versiforme</i>	9.44 a	9.76 a	7.93 a	8.65 b	9.95 a	10.01 a	8.68 a	8.49 b	34.01 a	27.35 a
<i>G. etunicatum</i>	9.10 a	9.81 a	8.02 a	8.89 b	9.43 a	9.48 a	8.54 a	8.90 ab	31.64 ab	28.44 a
<i>G. diaphanum</i>	8.49 a	8.97 a	6.65 bc	6.94 c	9.01 a	9.13 a	4.45 c	7.91 bc	29.68 bc	24.75 b
Non-AMF	6.91 b	8.20 b	6.53 c	6.88 c	7.66 b	8.31 a	4.32 c	6.99 c	28.71 c	21.71 c

## 2.5 两种土壤水分下 5种丛枝菌根真菌对枳实生苗叶片保护酶和相对含水量的影响

从表 4可知, 接种明显提高了枳实生苗叶片 SOD、POD 和 CAT 活性, 有的达到显著水平, 说明正常水分或水分胁迫下接种丛枝菌根真菌可有效增强保护酶的活性。因此, 可以初步认为, 丛枝菌根真菌提高植物抗旱性与提高保护酶活性关系密切。在正常水分条件下, 接种 *G. versiforme* 的枳实生苗有最高的 SOD 和 POD 活性, 接种 *G. mosseae* 的有最高的 CAT 活性, 接种 *G. geosporum* 的有最高的 RWC 值, 以上接种处理的均显著高于未接种处理的。在水分胁迫条件下, *G. mosseae* 接种的枳实生苗有最高的 SOD、POD 和 CAT 活性, *G. etunicatum* 接种的有最高的 RWC 值, 以上接种处理的均显著高于未接种处理的。

表 4 两种土壤水分下 5种丛枝菌根真菌对枳实生苗叶片保护酶和相对含水量的影响

Table 4 The effect of five *Glomus* species on protective enzymes and relative water content on trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) seedlings under well-watered (WW) and water stress (WS) conditions

接种 Inoculation	超氧化物歧化酶 SOD ( $U \cdot g^{-1} FM$ )		过氧化物酶 POD ( $U \cdot g^{-1} FM$ )		过氧化氢酶 CAT ( $U \cdot g^{-1} FM$ )		相对含水量 RWC (%)	
	WW	WS	WW	WS	WW	WS	WW	WS
<i>G. geosporum</i>	357.52 bc	586.25 ab	202.78 a	233.33 a	625.00 ab	791.67 ab	93.44 a	87.92 a
<i>G. mosseae</i>	356.02 bc	658.88 a	219.44 a	263.89 a	812.50 a	937.50 a	87.15 bc	86.95 a
<i>G. versiforme</i>	456.72 a	576.52 ab	226.39 a	238.89 a	666.67 ab	854.17 a	91.52 ab	85.98 a
<i>G. etunicatum</i>	405.06 ab	649.52 a	222.22 a	236.11 a	604.17 bc	812.50 a	91.31 ab	89.20 a
<i>G. diaphanum</i>	305.09 cd	539.46 b	223.88 a	234.72 a	348.58 d	645.83 bc	89.69 ab	88.43 a
Non-AMF	264.30 d	509.86 b	131.94 b	166.70 b	416.67 cd	619.92 c	84.38 c	79.45 b

菌种的有效性一般由不同环境条件下植物生长反应以及菌根依赖性所决定。本研究表明, 在正常水分下, *G. versiforme* 接种的枳实生苗无论在生物量、茎粗、依赖性、叶片可溶性糖、叶片和根系可溶性淀粉、叶片可溶性蛋白质含量以及叶片 SOD 和 CAT 活性上均最高。因此, 在正常水分下 *G. versiforme* 可初步认为是一个对枳实生苗较为高效的菌种。同样, 水分胁迫下接种 *G. mosseae* 的枳实生苗有最高的生物量、菌根依赖性、茎粗、叶片和根系的可溶性糖和可溶性淀粉含量、叶片可溶性蛋白质以及叶片 SOD、POD、CAT 活性。因此, 可以初步判断在水分胁迫下 *G. mosseae* 对枳实生苗是一个较为高效的抗旱菌种。但是, 不同的土壤因子、气候条件、寄主植物以及地域都会影响到菌种的有效性。而且本试验使用的材料为 1 年生幼株, 若将这 5 种菌种在不同树龄或田间使用可能效果不同。在西班牙, Camprubi 等<sup>[2]</sup>将柑橘园筛选的 3 种菌种 (包括 *G. mosseae* 在内) 接种在枳橙、酸橙、印度酸橘和葡萄柚上, 结果 4 种柑橘砧木都对 *G. intraradices* 依赖性高, 生长反应也最大。在美国, Fidelibus 等<sup>[6]</sup>将 4 种从干旱、半干旱和湿地筛选出的 *Glomus* 真菌接种在柠檬上, 结果从北美沙漠的牧豆树下选出的 *Glomus* sp. 25A 菌株在柠檬根系中观察到最多的泡囊、丛枝和菌丝, 且对植株的生长反应最强。因此, 在柑橘上展开不同地域、不同环境条件的适应性高效菌种筛选尚需进一步研究。

## 参考文献:

- 1 Davies F S, Albrigo L G. Citrus. Wallingford: CAB International, 1994. 1~254
- 2 Camprubi A, Calvet C. Isolation and screening of mycorrhizal fungi from citrus nurseries and orchards and inoculation studies. HortSci, 1996, 31 (3): 366~369
- 3 Phillips J M, Hayman D S. Improve procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans Br Mycol Soc, 1970, 55: 158~161
- 4 Bagyaraj D J. Vesicular-Arbuscular: application in agriculture. In: Norris J R, Read D J, Varam A K. Techniques for mycorrhizal research method in microbiology. London: Academic Press, 1994. 818~833
- 5 Estrada-Luna A A, Davies Jr F T. Arbuscular mycorrhizal fungi influence water relations, gas exchange, abscisic acid and growth of micropropagated chile ancho peper (*Capsicum annuum*) plantlets during acclimatization and postacclimatization. J. Plant Physiol, 2003, 160: 1073~1083
- 6 Fidelibus M W, Martin C A, Stutz J C. Geographic isolates of *Glomus* increase root growth and whole-plant transpiration of *Citrus* seedlings grown with high phosphorus. Mycorrhiza, 2001, 10: 231~236