

盐胁迫下 AM 真菌对枳实生苗生长 和根系抗氧化酶的影响

吴强盛^{1,2} 柳 威¹ 翟华芬¹ 叶贤锋¹ 赵伦杰¹

(1. 长江大学 园艺园林学院 湖北 荆州 434025; 2. 华南农业大学/农业部生态农业重点开放实验室, 广东 广州 510642)

摘要: 在盆栽条件下研究了接种 AM 真菌摩西球囊霉(*Glomus mosseae*) 和地表球囊霉(*G. versiforme*) 对 NaCl 胁迫的枳(*Poncirus trifoliata* L. Raf.) 实生苗生长和根系抗氧化酶的影响。结果表明: 盐胁迫降低枳实生苗地上部鲜重及地下部鲜重, 然而接种 AM 真菌促进了植物的生长。盐胁迫处理降低枳实生苗可溶性蛋白含量, 但增加了抗氧化酶(SOD、CAT) 的活性。盐胁迫和非盐胁迫下, 接种处理的植株可溶性蛋白含量以及 SOD 和 CAT 活性均显著高于非接种处理的植株。西球囊霉(*Glomus mosseae*) 提高枳实生苗耐盐性的效率比地表球囊霉(*G. versiforme*) 更高。

关键词: 丛枝菌根真菌; 盐胁迫; 抗氧化酶; 枳; 耐盐性

中图分类号: S666.9 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286(2010)04-0759-04

Influences of AM Fungi on Growth and Root Antioxidative Enzymes of Trifoliolate Orange Seedlings under Salt Stress

WU Qiang-sheng^{1,2}, LIU Wei¹, ZHAI Hua-fen¹,
YE Xian-feng¹, ZHAO Lun-jie¹

(1. College of Horticulture and Gardening, Yangtze University, Jingzhou 434025, China; 2. Key Laboratory of Ecological Agriculture of Ministry of Agriculture, PRC, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: An experiment was conducted to study the influences of AM fungi, *Glomus mosseae* and *G. versiforme*, on growth and root antioxidative enzymes of trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) seedlings under NaCl stress. The results showed that salt stress reduced shoot fresh weight and root fresh weight of trifoliolate orange, whereas the inoculation with AM fungi enhanced the shoot fresh weight and the root fresh weight. Salt stress also reduced the soluble protein content in the roots of trifoliolate orange, but increased the activities of antioxidative enzymes including SOD and CAT. Inoculated seedlings presented higher soluble protein content and activities of SOD and CAT in roots than non-inoculated seedlings under salt stress and nonsaline stress conditions. *G. mosseae* exhibited higher efficiency to enhance salt tolerance of trifoliolate orange than *G. versiforme*.

Key words: arbuscular mycorrhizal fungi; salt stress; antioxidative enzyme; trifoliolate orange; salt tolerance

收稿日期: 2010-04-19 修回日期: 2010-05-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(30800747)、农业部生态农业重点开放实验室开放课题(2009k20)、长江大学博士科研启动金和长江大学 2009 年大学生创新性实验计划资助项目(国家级 091048923)

作者简介: 吴强盛(1978-), 男, 副教授, 博士, 主要从事果树菌根生物技术研究, E-mail: wuqiangsh@163.com。

柑橘类植物对土壤盐碱十分敏感^[1-2]。当土壤 NaCl 浓度达到 20 mmol/L, 柑橘叶片没有出现任何毒害症状, 但生长受到抑制, 果实产量下降^[3]。因此, 提高柑橘耐盐性是柑橘生产的一项重要任务。

丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AM 真菌) 是土壤中分布很广的一类土壤真菌, 存在于几乎所有生态类型土壤中, 能与 90% 的陆生植物(包括柑橘) 根系形成互惠共生体——丛枝菌根^[4]。已有研究表明, 接种 AM 真菌能增强植物的耐盐性^[5]。一些在柑橘上的试验表明, 接种 AM 真菌对 NaCl 胁迫下 3 月龄的枳橙和卡塔檬实生苗耐盐性没有任何影响^[6]。Graham 和 Syvertsen^[7]观察到 *Glomus intraradices* 接种没有影响柑橘(酸橙和甜橙) 实生苗的耐盐性, 反而增加了对 Cl⁻ 的吸收。然而, Duke 等^[8]对枳橙接种 *G. intraradices* 结果发现 AM 真菌增加了枳橙的耐盐性。因此, 进一步研究 AM 真菌在柑橘耐盐性上的作用, 有助于帮助 AM 真菌在盐碱土壤栽培柑橘奠定基础。

根系是最先感受到盐胁迫信号的部位^[9]。抗氧化酶能够对植物在盐胁迫下作出一种快速应答反应, 是植物耐盐性的重要指标^[10-11]。本研究以我国柑橘产区最常用的砧木之一枳(*Poncirus trifoliata* L. Raf.) 为试材, 研究 AM 真菌接种对盐胁迫下的枳实生苗生长、根系抗氧化酶的影响, 预期利用 AM 真菌作为盐渍土柑橘栽培生物改良的一种方法提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验植物试材为枳。供试 AM 真菌为摩西球囊霉(*G. mosseae* 菌种编号: BGC XZ02A) 和地表球囊霉(*G. versiforme* 菌种编号: BGC HUN02B), 均由北京市农林科学院植物营养与资源研究所“中国丛枝菌根真菌种质资源库(BGC)”提供。2009 年 3 月 20 日将枳种播种在装有预先经过高压蒸气灭菌(121 °C 2 h, 以消除土中 AM 真菌孢子) 的栽培基质(V 土: V 蛭石: V 珍珠岩 = 5: 2: 1) 的塑料盆(上口内径 18 cm、盆底内径 12 cm、盆高 13 cm) 中。

1.2 试验设计

试验采用 2 × 3 双因素设计。因素一为 AM 真菌接种, 包括 *G. mosseae*、*G. versiforme* 和不接种丛枝菌根真菌(non + AMF) 3 处理, 接种菌种处理的每盆 15 g 菌剂。因素二为盐处理, 2009 年 6 月 20 日对接种处理试验盆进行盐处理, 处理浓度是 0 mmol/L, 100 mmol/L NaCl。为避免盐震荡, 100 mmol/L NaCl 处理预先按照每天逐级增加 25 mmol/L NaCl 进行(共进行 4 d)。为了保证盐处理效果, 5 d 后重新进行 1 次盐处理。整个试验共 6 个处理, 每个处理重复 4 次, 单盆为 1 小区, 每盆 4 株枳实生苗, 共 24 盆, 随机排列。

1.3 测定方法

盐处理 47 d 后结束试验, 将植株从试验盆中完整取出, 分成地上部和地下部。小心地将地下部清洗干净, 用卫生纸吸干表面水分, 立即称取地上部鲜质量和地下部鲜质量。剪取 1 ~ 2 cm 长的根段, 用吴强盛等^[12]的方法测定菌根侵染率。根系过氧化氢酶(CAT) 活性、超氧化物歧化酶(SOD) 活性、可溶性蛋白含量分别采用高锰酸钾滴定法^[13]、氮蓝四唑(NBT) 法^[13]、考马斯亮蓝 G-250 法^[13]测定。

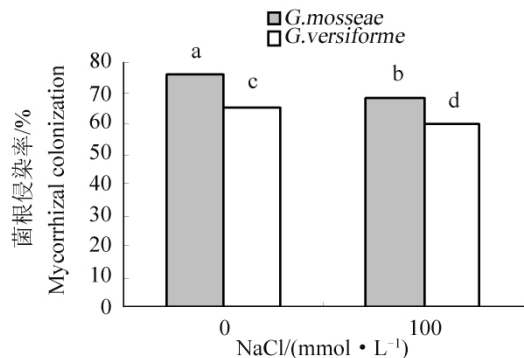
1.4 统计分析

运用 SAS(8. 1) 软件的 ANOVA 过程对处理间作差异性的测验, 采用 LSD 法进行多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 枳实生苗菌根发育状况

研究表明, 未接种 AM 真菌的枳实生苗根系未观察到菌根的侵染, 而接种的有 59. 52% ~ 75. 69% 侵染(图 1)。盐胁迫显著抑制了 *G. mosseae* 和 *G. versiforme* 的侵染。

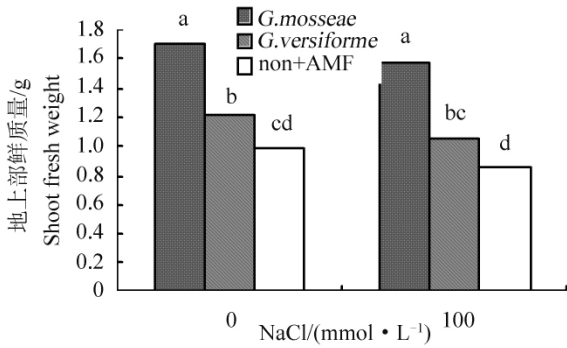


不同字母表示差异显著。

Difference were significantly when the letters were different.

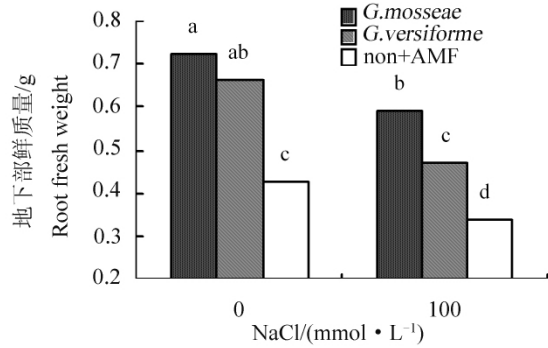
图 1 不同条件下枳实生苗菌根侵染率

Fig. 1 Mycorrhizal colonization of trifoliolate orange seedlings under different conditions



相同字母表示差异不显著, 不同字母表示差异显著。
The same letters indicated the difference was not significant, and the difference were significantly when the letters were different.

图 2 盐胁迫下 AM 真菌对枳实生苗地上部鲜重的影响
Fig. 2 Effect of AM fungi on shoot fresh weight of trifoliolate orangeseedlings under NaCl stress



相同字母表示差异不显著, 不同字母表示差异显著。
The same letters indicated the difference was not significant, and the difference were significantly when the letters were different.

图 3 盐胁迫下 AM 真菌对枳实生苗地下部鲜重的影响
Fig. 3 Effect of AM fungi on root fresh weight of trifoliolate orangeseedlings under NaCl stress

2.2 盐胁迫下 AM 真菌对枳实生苗生长的影响

2.2.1 地上部鲜质量 图 2 表明, 盐胁迫抑制了枳实生苗地上部分的生长, 但差异不显著。盐胁迫下, 接种 *G. mosseae* 和 *G. versiforme* 的地上部鲜质量均显著高于盐胁迫下的对照(分别高 44.87%、18.87%), 且接种 *G. mosseae* 比 *G. versiforme* 的地上部鲜质量显著高出 32.05%。非盐胁迫下, 接种 *G. mosseae* 和 *G. versiforme* 的地上部鲜质量均显著高于非盐胁迫下的对照(分别高 41.42%、18.18%), 且 *G. mosseae* 比 *G. versiforme* 的地上部鲜质量显著高 28.40%。

2.2.2 地下部鲜质量 图 3 表明盐胁迫抑制了枳实生苗地下部的生长。非盐胁迫下, 接种 AM 真菌的地下部鲜质量均显著高于非盐胁迫下的对照, 但菌根处理间没有差异。盐胁迫下, 接种 AM 真菌 *G. mosseae* 和 *G. versiforme* 的地下部鲜质量均显著高于盐胁迫下的对照(分别高 42.37%、27.66%), 且接种 *G. mosseae* 比 *G. versiforme* 的地下部鲜质量显著高出 20.34%。

2.3 盐胁迫下 AM 真菌对枳实生苗根系可溶性蛋白含量的影响

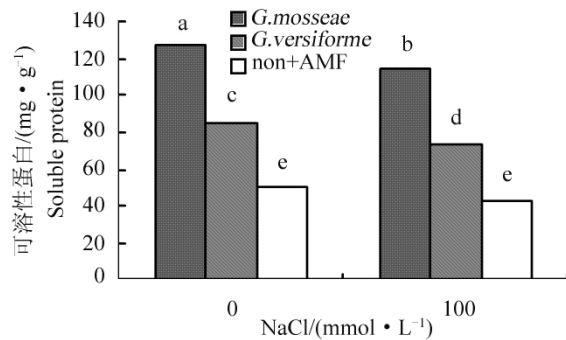
图 4 可知, 盐胁迫诱导了菌根化枳实生苗根系可溶性蛋白含量的降低, 而非菌根化的根系可溶性蛋白含量没有显著改变。在盐胁迫或非盐胁迫条件下, 接种 *G. mosseae* 和 *G. versiforme* 均显著提高了枳实生苗根系可溶性蛋白的含量, 且接种 *G. mosseae* 比 *G. versiforme* 处理的根系可溶性蛋白质含量高, 达到显著水平。

2.4 盐胁迫下 AM 真菌对枳实生苗根系 SOD 活性的影响

图 5 表明, 盐胁迫诱导 *G. mosseae* 接种的枳实生苗和非菌根化苗根系 SOD 活性显著升高。盐胁迫或非盐胁迫下, 接种 *G. mosseae* 和 *G. versiforme* 均显著提高了根系 SOD 活性, 在盐胁迫下比对照分别提高 6.42%、1.82%, 在非盐胁迫下较对照分别提高 7.48%、5.52%。而且, 无论在非盐胁迫还是盐胁迫下, 接种 *G. mosseae* 的枳实生苗比 *G. versiforme* 接种的枳实生苗具有显著更高的根系 SOD 活性。

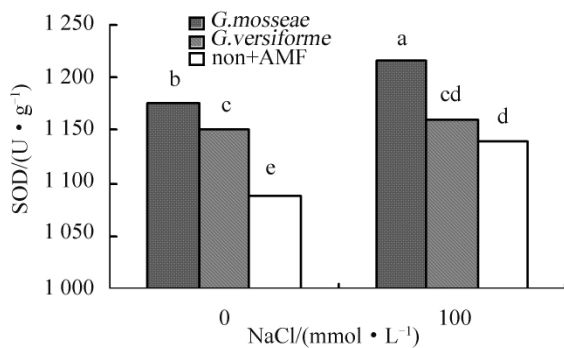
2.5 盐胁迫下 AM 真菌对枳实生苗根系 CAT 活性的影响

由图 6 可见, 盐胁迫处理使枳实生苗根系 CAT 活性增强, 但差异不显著。非盐胁迫或盐胁迫下, 接



相同字母表示差异不显著, 不同字母表示差异显著。
The same letters indicated the difference was not significant, and the difference were significantly when the letters were different.

图 4 盐胁迫下 AM 真菌对枳实生苗根系可溶性蛋白的影响
Fig. 4 Effect of AM fungi on soluble protein content of roots of trifoliolate orange seedlings under NaCl stress

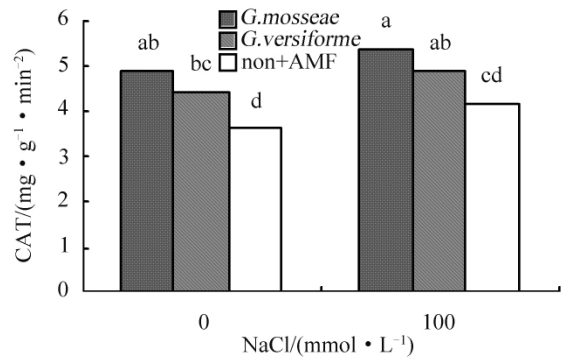


相同字母表示差异不显著,不同字母表示差异显著。

The same letters indicated the difference was not significant, and the difference were significantly when the letters were different.

图 5 盐胁迫下 AM 真菌对枳实生苗根系 SOD 活性的影响

Fig. 5 Effect of AM fungi on SOD activity on roots of trifoliate orange seedlings under NaCl stresses



相同字母表示差异不显著,不同字母表示差异显著。

The same letters indicated the difference was not significant, and the difference were significantly when the letters were different.

图 6 盐胁迫下 AM 真菌对枳实生苗根系 CAT 活性的影响

Fig. 6 Effect of AM fungi on CAT activity on roots of trifoliate orange seedlings under NaCl stress

种 AM 真菌 *G. mosseae* 和 *G. versiforme* 均显著增强了根系 CAT 活性,在非盐胁迫下分别提高 25.77%、17.12%,在盐胁迫下分别提高 22.86%、15.31%。此外,两个菌种处理在盐胁迫或非盐胁迫下均没有表现显著差异。

3 讨论

3.1 盐胁迫下 AM 真菌对枳实生苗生长的影响

许多研究已经证实,如果盐浓度超出了植物耐盐碱的限度,那么盐胁迫就会抑制植物的生长,如株高、茎粗、叶面积、根系长度、鲜干重等^[14]。本研究也证实,盐胁迫抑制了枳实生苗鲜质量,特别是地下部鲜质量达到显著差异,表明了地下部受到盐胁迫的影响更大。这与 Pellinen 等^[9]研究桦树遭受盐胁迫的结果相符合。盐胁迫抑制生长的可能原因:一是由于盐分破坏膜透性和离子平衡而产生伤害;另一个是盐分胁迫影响了叶绿素含量,抑制了光合作用^[15]。当盐胁迫的枳实生苗外源接种 AM 真菌,结果接种处理显著地缓解了盐胁迫的这种抑制效应,充分说明 AM 真菌能够增强盐胁迫下枳实生苗的生长,从而维持了植物在盐胁迫下的生长。

3.2 盐胁迫下 AM 真菌对枳实生苗根系蛋白质含量的影响

本研究表明,无论是盐胁迫或非盐胁迫条件下,接种 AM 真菌 *G. mosseae* 和 *G. versiforme* 都显著提高了枳实生苗根系可溶性蛋白含量。贺忠群等^[16]研究也表明,盐处理下接种的番茄可溶性蛋白含量高于未接种株。这说明接种 AM 真菌后加强了一些蛋白的合成或诱导了某些新蛋白产生。这些蛋白在盐胁迫下通过参与渗透调节或其它途径提高了枳实生苗的耐盐性,使菌根化枳实生苗在活性氧代谢中处于有利地位,使其耐盐性增强。

3.3 盐胁迫下 AM 真菌对枳实生苗根系抗氧化酶活性的影响

SOD、CAT 等保护酶类在植物体内协同作用清除过量的活性氧,维持活性氧的代谢平衡、保护膜结构,从而使其在一定程度上忍耐、减缓或抵御逆境胁迫伤害^[10-11]。本试验结果表明,盐胁迫和非盐胁迫条件下接种 AM 真菌的枳实生苗根系抗氧化酶 SOD 和 CAT 的活性增强,说明菌根化枳实生苗根系具有更高的耐盐性。该结果与 Wu 等^[17]接种 AM 真菌在干旱胁迫的枳实生苗上研究结果相一致。

此外,在菌根侵染率、地上部鲜质量、地下部鲜质量、可溶性蛋白、SOD、CAT 上,接种 *G. mosseae* 的植株均高于或显著高于接种 *G. versiforme* 的植株,暗示 *G. mosseae* 在枳实生苗耐盐性上效率更高。

参考文献:

[1] Al Yassin A. Influence of salinity on citrus: A review paper[J]. J Central Eur Agric 2004 5(4): 263-272.
 [2] Levy Y, Syvertsen J. Irrigation water quality and salinity effects in citrus trees[J]. Hortic Rev 2004 30(1): 37-82.
 [3] Cerdá A, Caro M, Fernández F G, et al. Foliar contents of sodium and choride on citrus rootstocks irrigated with saline waters [C]//Dregne H E. Managing saline water for irrigation. Lubbock: Texas Tech University, 1977: 155-164.

(下转第 782 页)

的板材,其弹性模量为 7 634.2 MPa,静曲强度为 94.3 MPa,且沸水浸渍剥离率为 0%。

(2) 与竹材胶合板相比,使用竹材加工剩余物制备的定向重组复合板性能与其相近,但成本较低,充分利用了竹材加工剩余物,提高了竹材利用率,压制的板材能够满足汽车车厢底板及混凝土模板的性能要求,应用前景非常广阔。

(3) 实验中探索性研究了利用竹材加工剩余物制备的复合板材性能可以达到相关标准要求,但是推广到产业化应用上,竹材剩余物机械束解设备的开发及浸胶结束后竹材剩余物的定向铺装还需进一步研究。

参考文献:

- [1]张齐生. 竹类资源加工的特点及其利用途径的展望[J]. 中国林业 2004 26(1): 9-11.
 [2]于文吉,余养伦,周月,等. 小径竹重组结构材性能影响因子的研究[J]. 林产工业 2006 33(6): 24-28.
 [3]李琴,汪奎宏,华锡奇,等. 小径杂竹制造重组竹的试验研究[J]. 竹子研究汇刊 2002 21(3): 33-36.
 [4]朱一辛,饶文彬,关明杰,等. 木竹重组材研究进展及开发前景[J]. 林业科技开发 2003 17(6): 6-8.
 [5]叶良明,姜志宏,叶建华. 小径竹为原料的平行定向特制竹篾板的初步研究[J]. 木材工业 1993 10(2): 6-9.
 [6]顾继友. 胶粘剂与涂料[M]. 北京: 中国林业出版社, 1999: 9-11.

(上接第 762 页)

- [4]Gadkar V, David Schwartz R, Kunik T, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi colonization: Factors involved in host recognition [J]. Plant Physiol 2001 127(4): 1493-1499.
 [5]Evelin H, Kapoor R, Giri B. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: A review [J]. Ann Bot 2009 104(7): 1263-1280.
 [6]Murkute A A, Sharma S, Singh S K. Studies on salt stress tolerance of citrus rootstock genotypes with arbuscular mycorrhizal fungi [J]. Hort Sci (Prague) 2006 33(2): 70-76.
 [7]Graham J H, Syvertsen J P. Vesicular-arbuscular mycorrhizas increase chloride concentration in citrus seedlings [J]. New Phytol. 1989 113(1): 29-36.
 [8]Duke E R, Johnson C R, Koch K E. Accumulation of phosphorus, dry matter and betaine during NaCl stress of split-root citrus seedlings colonized with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on zero, one or two halves [J]. New Phytol 1986 104(4): 583-590.
 [9]Pellinen R, Palva T, Kangasjarvi J. Subcellular localization of ozone-induced hydrogen peroxide production in birch (*Betula pendula*) leaf cells [J]. Plant J 1999 20(3): 349-356.
 [10]Zushi K, Matsuzoe N, Kitano M. Developmental and tissue-specific changes in oxidative parameters and antioxidant systems in tomato fruits grown under salt stress [J]. Sci Hortic 2009 122(3): 362-368.
 [11]Abed S, Peter M N. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation [J]. J Exp Bot 2001 52(364): 2207-2211.
 [12]吴强盛, 邹英宁, 占娟. 葡萄丛枝菌根的发育及其与土壤有效磷的关系 [J]. 果树学报 2009 26(3): 311-314.
 [13]李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社 2000: 165-167, 167-169, 184-185.
 [14]Murkute A, Sharma S, Singh S K. Citrus in terms of soil and water salinity: a review [J]. J Sci Ind Res, 2005, 64(6): 393-402.
 [15]罗辉. 玉米幼苗对盐胁迫的响应和适应 [J]. 井冈山师范学院学报: 自然科学版 2004 25(5): 23-28.
 [16]贺忠群, 贺超兴, 张志斌, 等. 丛枝菌根真菌对番茄渗透调节物质含量的影响 [J]. 园艺学报 2007 34(1): 147-152.
 [17]Wu Q S, Xia R X, Zou Y N. Reactive oxygen metabolism in mycorrhizal and non-mycorrhizal citrus (*Poncirus trifoliata*) seedlings subjected to water stress [J]. J Plant Physiol 2006 163(11): 1101-1110.