丛枝菌根真菌不同接种时期对喜树幼苗生长效应的影响

赵　昕[1,2]，吴子龙[1]

(1.邯郸学院 生物科学系，河北 邯郸 056005；2.东北林业大学 生命科学学院，黑龙江 哈尔滨 150040)

摘　要：以喜树幼苗为试材，通过温室盆栽接种试验，研究了在不同接种时期接种蜜色无梗囊霉(*Acaulospora mellea*)对喜树幼苗生长的影响。结果表明：丛枝菌根的形成促进了喜树幼苗的生长，但其促进作用受到接种时期的影响，早期接种菌根真菌(喜树幼苗长出真叶后第0天和20天)，更有利于喜树幼苗的生长和对氮、磷营养的吸收。

关键词：喜树幼苗；丛枝菌根；生长

中图分类号：Q 945.78　**文献标识码**：A　**文章编号**：1001－0009(2014)10－0061－03

丛枝菌根(Arbuscular mycorrhiza，AM)是真菌与植物形成的菌根共生体中分布最为广泛的类型之一，自然界中约有90%的维管植物都能形成丛枝菌根[1]。丛枝菌根能够促进植物对磷、铜等矿质元素及养分的吸收，提高植物对环境胁迫的耐受力，从而改善植物的生长状况[2]。研究表明，不仅菌根真菌的种类会影响植物的生长发育[3]，不同的接种时期和接种剂量也会对植物的生长产生较大的影响[4]。

喜树(*Camptotheca acuminata*)是我国特有的多年生亚热带落叶阔叶树种，因其次生代谢产物喜树碱具有良好的抗肿瘤活性而受到人们的广泛关注[5]。前期的研究中，通过温室盆栽接种试验，探讨了2属6种丛枝菌根真菌对喜树幼苗生长和氮、磷吸收的影响[6]，证明丛枝菌根显著影响了喜树幼苗的生长，并且不同种属的菌根真菌对喜树幼苗的生长表现出不同的效应。在此基础上，选择对喜树幼苗侵染较高并且对其生长促进作用较为明显的蜜色无梗囊霉(*Acaulospora mellea*)，进一步探讨丛枝菌根真菌不同接种时期对喜树幼苗生长的影响。

1　材料与方法

1.1　试验材料

以喜树幼苗为供试材料。

1.2　试验方法

喜树种子以0.5%的$KMnO_4$浸泡消毒0.5 h，无菌水洗净，播入121℃灭菌2 h的河沙中催芽，幼苗长出侧根时移入花盆中，置于温室中自然采光，常规管理。待幼苗长出1对真叶后进行接种处理。处理组分别接种含有蜜色无梗囊霉孢子的菌土，每盆接种剂量为30 g，在幼苗长出真叶后第0、20、40、60、80天分别接种一组幼苗，共5组，以不接种任何丛枝菌根真菌一组为对照(CK)，每组10株重复，最后一组接种后再生长100 d，采集所有喜树幼苗分别测定各项指标。

1.3　项目测定

1.3.1　菌根侵染率的统计　随机选取喜树鲜根30条，剪成长约1 cm的根段，采用Phillips等[7]的染色方法染色、制片、镜检，参照Trouvelot等[8]的方法统计菌根侵染率。

1.3.2　幼苗生长状况的测定　量取株高、地径后将喜树幼苗按根、茎、叶分开，称量叶片鲜重后于80℃烘干至恒重，称重并计算根冠比(根干重/地上部干重)、叶片含水量[(叶片鲜重－叶片干重)/叶片鲜重]。

1.3.3　幼苗全氮和全磷含量测定　参照崔晓阳[9]的方法，采用自动凯氏法测定幼苗的全氮含量，采用硫酸-高氯酸酸溶-钼锑抗比色法测定幼苗的全磷含量。

1.4　数据分析

试验数据采用SPSS软件进行统计分析，LSD最小差异法进行多重比较。

2　结果与分析

2.1　喜树幼苗的菌根形成状况

从表1可以看出，未接种(CK)的喜树幼苗无菌根真菌侵染，未形成丛枝菌根。接种蜜色无梗囊霉的喜树幼苗均被侵染，并形成了丛枝菌根，且伴随着接种时期的延后，菌根真菌的侵染率逐渐降低。在喜树幼苗长出真叶后第20、40、60、80天接种蜜色无梗囊霉，各处理间的菌根真菌侵染率差异显著，第0天和第20天接种蜜色无

第一作者简介：赵昕(1977-)，女，博士，副教授，现主要从事植物次生代谢生态学方面的教学与科研工作。E-mail：zhaoxinmdj@126.com

基金项目：国家青年科学基金子课题资助项目(31200478)。

收稿日期：2014－01－14

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

表 1　不同接种时期对喜树幼苗菌根侵染率和生物量的影响

Table 1　Effect of inoculation time on the colonization rate and biomass of *Camptotheca acuminata* seedlings with arbuscular mycorrhizal fungi

处理 Treatment	接种时期 Inoculation time/d	菌根侵染率 Colonization rate/%	根干重 Root dry weight /g·株$^{-1}$	茎干重 Stem dry weight /g·株$^{-1}$	叶干重 Leaf dry weight /g·株$^{-1}$	全株干重 Whole plant dry weight/g·株$^{-1}$
未接种(CK) Non-inoculation CK	—	0e	1.176±0.065d	0.606±0.133b	1.334±0.209c	3.116±0.320c
	0	93.26±5.28a	2.073±0.264a	0.846±0.084a	2.001±0.368a	4.920±0.642a
接种菌根真菌	20	89.67±3.46a	1.590±0.164bc	0.780±0.134a	1.696±0.128b	4.066±0.290b
Inoculation with arbuscular	40	74.13±2.36b	1.480±0.117c	0.607±0.048b	1.332±0.230c	3.419±0.306c
mycorrhizal fungi	60	55.14±6.12c	1.759±0.152b	0.589±0.080b	1.551±0.228bc	3.889±0.248b
	80	8.39 ± 0.13d	1.239±0.224d	0.591±0.056b	1.369±0.238c	3.200±0.404c

注:接种时期为幼苗长出真叶后相应天数接种菌根真菌。同一列数据中字母不同者表示差异显著($P<0.05$)。下同。

Note:Seedlings at true leaf stage to corresponding number of days were inoculated with arbuscular mycorrhiza. Data with different letters are significantly different ($P<0.05$) in the same column. The same below.

梗囊霉,菌根真菌的侵染率均达到89%以上,且差异不显著,表明在这段时期接种菌根真菌,与喜树幼苗形成的共生体系发育状况较好。

2.2　喜树幼苗生长的差异

由表1、2可知,接种菌根真菌能促进喜树幼苗的生长发育,但其作用与接种时期有一定关系。伴随着接种时期的延后,菌根真菌对喜树幼苗的生长促进作用减弱。在喜树幼苗长出真叶后第0天接种蜜色无梗囊霉,各项生长指标均显著优于无菌根幼苗;第20天接种菌根真菌,也表现出较为明显的优势,株高、生物量均显著高于CK,地径、叶片含水量和根冠比略高于CK,但差异不显著;而在喜树幼苗长出真叶后第40、60、80天接种蜜色无梗囊霉,与CK相比差异不明显,并且各处理间的地径、叶片含水量、茎和叶片的干重差异也不显著。

表 2　不同接种时期对喜树幼苗生长发育的影响

Table 2　Effect of inoculation time on the growth and development of *Camptotheca acuminata* seedlings with arbuscular mycorrhizal fungi

处理 Treatment	接种时期 Inoculation time/d	地径 Diameter of stem/cm	株高 Height/cm	叶片含水量 Water content of leaf/%	根冠比 Root/shoot ratio
未接种 CK Non-inoculation CK	—	1.765±0.080b	18.781±1.516b	26.99±0.40bc	0.623±0.022c
	0	1.989±0.091a	23.250±1.515a	29.24±0.66a	0.733±0.078b
接种菌根真菌	20	1.779±0.012b	20.517±1.289a	27.88±0.15b	0.643±0.058bc
Inoculation with arbuscular	40	1.654±0.065b	18.923±0.481b	26.59±0.58bc	0.767±0.061a
mycorrhizal fungi	60	1.622±0.110b	18.153±0.350c	25.49±0.38c	0.828±0.111a
	80	1.696±0.113b	18.320±0.873c	25.87±0.48c	0.632±0.097bc

2.3　喜树幼苗的氮、磷养分吸收

表3、4表明,接种菌根真菌对喜树幼苗氮、磷营养的吸收具有重要作用。喜树幼苗长出真叶后第0天接种菌根真菌,菌根幼苗无论是根、茎、叶片,还是全株的氮含量均高于无菌根幼苗,其中的根和全株含量分别为1.084%和1.089%,是CK的1.3倍和1.2倍,差异显著;第20天接种菌根真菌的喜树幼苗其根、叶和全株的氮含量均为最高,分别是无菌根幼苗的1.3、1.5、1.4倍,差异显著;第40和60天接种的菌根幼苗氮含量与第20天接种的菌根幼苗类似,根、叶片和全株的氮含量均高于无菌根幼苗;而第80天接种的菌根幼苗,根、叶片和全株的氮含量与无菌根幼苗相近,差异不显著,茎的氮含量显著低于无菌根幼苗。

与氮含量相比,喜树幼苗接种菌根真菌后更大地促进了其对磷养分的吸收。喜树幼苗长出真叶后第0天接种菌根真菌,无论是根、茎、叶片还是全株的磷含量都显著高于无菌根幼苗,并且随着接种时期的延后,菌根幼苗中的磷含量也增加;到第60天接种菌根真菌,磷含量的增加趋势有所回落;第80天,菌根幼苗根、茎、叶片和全株中的磷含量略低于无菌根幼苗,但差异不显著。

表 3　不同接种时期对喜树幼苗不同部位氮含量的影响

Table 3　Effect of inoculation time on the N content of different part of *Camptotheca acuminata* seedlings with arbuscular mycorrhizal fungi

处理 Treatment	接种时期 Inoculation time/d	根 Root/%	茎 Stem/%	叶片 Leaf/%	全株 Whole plant/%
未接种 CK Non-inoculation CK		0.828±0.081b	0.641±0.040ab	1.038±0.107c	0.884±0.067c
	0	1.084±0.121a	0.711±0.062a	1.253±0.022bc	1.089±0.061b
接种菌根真菌	20	1.108±0.080a	0.623±0.050ab	1.574±0.140a	1.209±0.083a
Inoculation with arbuscular	40	1.098±0.259a	0.604±0.016b	1.364±0.070b	1.115±0.1021a
mycorrhizal fungi	60	1.066±0.045a	0.595±0.070b	1.271±0.146bc	1.076±0.073b
	80	0.781±0.082b	0.534±0.057c	1.294±0.481bc	0.954±0.038bc

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn

表 4 不同接种时期对喜树幼苗不同部位磷含量的影响

Table 4 Effect of inoculation time on the P content of different part of *Camptotheca acuminata* seedlings with arbuscular mycorrhizal fungi

处理 Treatment	接种时期 Inoculation time/d	根 Root/%	茎 Stem/%	叶片 Leaf/%	全株 Whole plant/%
未接种 CK Non-inoculation CK	—	0.146±0.020c	0.098±0.010c	0.124±0.022b	0.128±0.016c
	0	0.439±0.019a	0.108±0.017b	0.155±0.009a	0.267±0.007a
接种菌根真菌	20	0.432±0.017a	0.134±0.011ab	0.151±0.008a	0.258±0.003a
Inoculation with arbuscular	40	0.407±0.024a	0.164±0.021a	0.156±0.011a	0.266±0.018a
mycorrhizal fungi	60	0.244±0.021b	0.091±0.027c	0.152±0.023a	0.184±0.016b
	80	0.143±0.023c	0.096±0.016c	0.115±0.014b	0.122±0.017c

3 结论与讨论

菌根真菌与宿主植物的互利共生可以增强植物从土壤中获取水分的能力,改善植物根系对磷、镉等矿质元素及养分的吸收,从而促进植物的生长[10],因此,接种丛枝菌根真菌有利于植物的生长发育。通常认为接种越早越有利于侵染,但有研究者认为菌根真菌侵染根系后要消耗宿主植物大量同化产物,过早接种不利于幼苗的生长[11-12]。例如,熊丙全等[4]也发现在葡萄扦插过程中接种丛枝菌根真菌,能促进扦插苗的生长发育,但是扦插后 7 d 接种菌根真菌的扦插苗反而不如扦插后14～21 d 期间接种菌根真菌的作用好,它们推测是由于此时插条的根系萌发处于旺盛阶段,利于菌根的形成,同时,插条也已经过一定阶段的生长,积累了较为充足的营养,能减少菌根真菌消耗营养对幼苗生长的影响。该试验有类似结果,在喜树幼苗长出真叶后第 20 天接种丛枝菌根真菌,菌根真菌的侵染率达到 89%,与第 0 天接种蜜色无梗囊霉的侵染率差异不显著,此时期喜树幼苗形成的共生体系发育状况良好。在喜树幼苗长出真叶后第 0 天和 20 天接种菌根真菌,大部分生长指标均明显优于无菌根幼苗,而在第 40、60、80 天接种蜜色无梗囊霉,与 CK 相比差异不够明显,并且各处理间的地径、叶片含水量、茎和叶片的干重差异也不显著。从喜树幼苗全株的氮含量来看,第 20 天接种菌根真菌的菌根幼苗最高,磷含量则是第 0 天接种菌根真菌的喜树幼苗含量最高。

参考文献

[1] 刘润进,李晓林. 丛枝菌根及其应用[M]. 北京:科学出版社,2000.

[2] Smith S E,Read D J. Mycorrhizal Symbiosis[M]. 2nd edn. San Diego: Academic Press Inc,1997.

[3] 张功,旺庆,峥嵘,等. 不同 VA 菌根真菌对马铃薯生长的影响[J]. 华北农学报,2001,16(4):115-118.

[4] 熊丙全,阳淑,张勇,等. 丛枝菌根真菌接种对葡萄扦插苗生长效应的影响[J]. 北方园艺,2009(11):1-4.

[5] Zhao X,Wang Y,Yan X F. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus on camptothecin content in *Camptotheca acuminata* seedlings[J]. Allelopathy Journal,2007,20(1):51-60.

[6] 赵昕,阎秀峰. 丛枝菌根对喜树幼苗生长及氮、磷吸收的影响[J]. 植物生态学报,2006,30(2):947-953.

[7] Phillips J M,Hayman D S. Improved procedures for clearing and attaining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection[J]. Trans Brit Mycol Soc,1970,55:158-161.

[8] Trouvelot A,Kough J L,Gianinazzi-pearson V. Mesure du Taux de Mycorrhization VA d'un Systeme Radiculaire. Recherche de Methods d'estimation Ayant une Signification Fonctionelle[C]//In:Mycorrhizae:Physiology and Genetics Les Mycorrhizes:Physiologie et Génétique (Proceedings of the 1st ESM/1er SEM,Dijon,1-5 July 1985). INRA,Paris,1986:217-221.

[9] 崔晓阳. 森林土壤现代实验分析技术[M]. 哈尔滨:东北林业大学出版社,1998:73-78,95-99.

[10] 毕银丽,丁保健,李晓林. VA 菌根对冬小麦利用养分和水分的影响[J]. 土壤通报,2001,32(3):99-101.

[11] 李晓林,冯固. 丛枝菌根生态生理[M]. 北京:华文出版社,2001.

[12] 于洋,于涛,王洋,等. 接种时期对丛枝菌根喜树幼苗喜树碱含量的影响[J]. 植物生态学报,2010,34(6):687-694.

Effect of Different Inoculation Time on the Growth of *Camptotheca acuminata* Seedlings with Arbuscular Mycorrhizal Fungi

ZHAO Xin[1,2],WU Zi-long[1]

(1. Biology Department, Handan College, Handan, Hebei 056005; 2. College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040)

Abstract: Taking *Camptotheca acuminata* seedlings as test material, through pot inoculation experiment in the greenhouse, effect of inoculation *Acaulospora mellea* on the growth of *Camptotheca acuminata* seedlings in the different inoculation time was studied. The results showed that the formation of AM promoted the growth of *C. acuminata* seedlings, but the promotion impact got affected by inoculation time. The AMF was more beneficial to the improvement of the growth and absorbing the nitrogen and phosphorus of seedlings, which were inoculated at early stage (0 and 20 days of seedlings after true leaf stage).

Key words: *Camptotheca acuminata* seedlings; arbuscular mycorrhiza; growth

PDF 文件使用 "pdfFactory Pro" 试用版本创建 www.fineprint.cn