

丛枝菌根真菌不同接种时期对喜树幼苗光合特性的影响

吴子龙¹, 赵昕^{1,2}

(1. 邯郸学院 生命科学与工程学院, 河北 邯郸 056005; 2. 东北林业大学 生命科学院, 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,研究了蜜色无梗囊霉(*Acaulospora mellea*)不同接种时期对喜树幼苗叶片光合特性的影响。结果表明:丛枝菌根的形成有助于提高喜树幼苗叶片的光合色素含量、净光合速率、气孔导度和蒸腾速率,但其促进作用受到接种时期的影响,伴随着接种时期的延后,菌根真菌对喜树幼苗的促进作用减弱。长出真叶后第0天和20天接种菌根真菌对喜树幼苗的促进作用明显,尤其是第0天接种的菌根幼苗,其叶绿素a、b和总叶绿素含量以及净光合速率、气孔导度和蒸腾速率均为最高,与无菌根幼苗差异显著。并且,长出真叶后第0天接种的菌根幼苗有效量子产量(EQY)和光化学淬灭(qP)也显著高于无菌根幼苗。长出真叶后第20天接种的菌根幼苗叶绿素a/b、类胡萝卜素含量和PSII最大光化学量子产量(Fv/Fm)最高。长出真叶后超过20d以上接种(40、60、80d)的菌根幼苗叶绿素含量、净光合速率、Fv/Fm高于或接近无菌根幼苗,促进作用有限。

关键词:喜树幼苗;丛枝菌根;光合特性

中图分类号:Q 945.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)13-0065-04

丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)能够与80%~90%的被子植物形成丛枝菌根^[1]。AMF能改善植物的生长状况,促进植物对水分及养分的吸收,提高叶绿素含量,加快植物叶片的光合速率^[2]。喜树(*Camptotheca acuminata*)是我国特有的多年生亚热带

落叶阔叶树^[3],前期研究中,通过温室盆栽接种试验,探讨了3属6种丛枝菌根真菌对喜树幼苗生长和光合特性的影响^[4],结果表明,蜜色无梗囊霉(*Acaulospora mellea*)菌根幼苗叶片的净光合速率、气孔导度和蒸腾速率均有显著提高,并且不同的接种时期对喜树幼苗的生长和喜树碱的积累影响不同^[5],基于此,现以喜树为试材,通过温室盆栽接种试验,研究了不同接种时期接种蜜色无梗囊霉(*Acaulospora mellea*)对喜树幼苗叶片光合特性的影响。

第一作者简介:吴子龙(1977-),男,硕士,讲师,现主要从事植物资源学研究。E-mail:wuzilonghd@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:2014-01-16

Abstract: *Hosta* × *hybrida* 'So Sweet' and *Hosta ventricosa* as test materials, the CIRAS-type 2 photosynthetic apparatus was adopted, with the effects of heavy metal Cr (0, 20, 200, 400 mg/kg) stress on *Hosta* × *hybrida* 'So Sweet' and *Hosta ventricosa* photosynthetic diurnal variation, light response curves and chlorophyll content were studied. The results showed that compared with CK, the content of chlorophyll a and b increased and the solar energy use efficiency and light adaptability were the strongest under the Cr 20 mg/kg stress. In the Cr 200 mg/kg and Cr 400 mg/kg stress, chlorophyll a and b content decreased and light response parameters decreased with the increasing concentration of Cr. In each set of concentration treatment, two kinds of *Hosta* net photosynthetic rate (Pn) showed the curve of 'double-peak' typical, had significant midday depression of photosynthesis phenomenon, net photosynthetic rate (Pn) was positively correlated with transpiration rate (Tr), stomatal conductivity (Gs). It was negatively correlated with the intercellular CO₂ concentration (Ci). According to two kinds of *Hosta* chlorophyll and optical response parameters compared with CK under heavy metal Cr treatment, *Hosta* × *hybrida* 'So Sweet' ability was higher than *Hosta ventricosa* in heavy metal detoxification and tolerance.

Key words: heavy metal Cr; *Hosta*; chlorophyll; photosynthetic characteristics

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为喜树(*Camptotheca acuminata*)幼苗。供试喜树种子以 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, 常规管理备用。

1.2 试验方法

待幼苗长出 1 对真叶后进行接种处理。以不接种任何丛枝菌根真菌为对照(CK), 接种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 1 组幼苗, 共 5 组, 每组 10 株, 最后 1 组接种后再生长 100 d 测定喜树幼苗的各项指标。

1.3 项目测定

1.3.1 菌根侵染率 随机选取喜树鲜根 30 条, 剪成长约 1 cm 的根段, 采用 Phillips 等^[6] 的染色方法染色、制片、镜检, 参照 Trouvelot 等^[7] 的方法统计菌根侵染率。

1.3.2 幼苗叶片叶绿素含量的测定 当天摘取用于测定气体交换的叶片按照 Wellburn^[8] 的方法测定。

1.3.3 气体交换参数的测定 按照赵昕等^[4] 的方法, 使

用英国 PP-System 公司生产的 CIRAS-2 型光合作用测定系统直接测定。

1.3.4 叶绿素荧光参数的测定 按照赵昕等^[4] 的方法, 使用英国 Hansatech 公司生产的 FMS-2 调制式叶绿素荧光仪测定。

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, 并且, 伴随着接种时期的延后, 菌根真菌的侵染率逐渐降低。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 20 天接种蜜色无梗囊霉, 菌根真菌的侵染率均达到 89% 以上, 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。

表 1 不同接种时期对喜树幼苗菌根侵染率和叶片光合色素含量的影响

Table 1 Effect of different inoculation time on the colonization rate and contents of photosynthetic pigments in leaves 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 /%	叶绿素 a 含量 Chlorophyll a content /mg · g ⁻¹	叶绿素 b 含量 Chlorophyll b content /mg · g ⁻¹	叶绿素 a/b Chlorophyll a/b	总叶绿素含量 Total chlorophyll content/mg · g ⁻¹	类胡萝卜素含量 Carotenoid content /mg · g ⁻¹
未接种 CK	—	0e	2.826±0.123b	0.946±0.143b	2.987±0.416a	3.772±0.211c	0.373±0.032c
接种菌根真菌 Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi	0	93.26±5.28a	3.658±0.241a	1.216±0.102a	3.008±0.374a	4.874±0.134a	0.472±0.051a
	20	89.67±3.46a	3.426±0.306a	1.103±0.091b	3.106±0.341a	4.529±0.223b	0.481±0.047a
	40	74.13±2.36b	2.946±0.183b	1.013±0.042b	2.647±0.115b	3.959±0.182bc	0.397±0.031b
	60	55.14±6.12c	2.749±0.294b	0.891±0.120b	3.085±0.351a	3.640±0.461c	0.401±0.048b
	80	8.39±0.13d	2.802±0.119b	0.937±0.093b	2.990±0.173a	3.739±0.401c	0.378±0.012c

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.

2.2 喜树幼苗叶片光合色素的差异

从表 1 还可以看出, 不同接种时期接种菌根真菌对喜树幼苗叶片光合色素的含量有不同影响。叶绿素 a、b 含量和总叶绿素含量均为长出真叶后第 0 天接种的菌根幼苗最高, 均达到无菌根幼苗的 1.29 倍, 差异显著。第 20 天接种的菌根幼苗, 叶绿素 a 和总叶绿素含量显著高于无菌根幼苗, 叶绿素 b 含量与无菌根幼苗相当, 差异不显著。第 40、60、80 天接种的菌根幼苗, 叶绿素 a、b 和总叶绿素含量较低, 与无菌根幼苗差异不显著。叶绿素 a/b 和类胡萝卜素含量都是长出真叶后第 20 天接种的菌根幼苗最高, 分别是第 40 天接种的菌根幼苗(叶绿素 a/b 最低, 为 2.647)和无菌根幼苗(类胡萝卜素含量最低, 为 0.373 mg/g)的 1.17 倍和 1.29 倍, 差异显著。

2.3 喜树幼苗叶片气体交换参数的差异

由表 2 可知, 除了长出真叶后第 80 天接种的菌根幼苗净光合速率略高于无菌根幼苗差异不显著外, 其余接种时期的菌根幼苗净光合速率均显著高于无菌根幼苗。从叶片气孔导度来看, 长出真叶后第 0 天和 20 天接种的菌根幼苗均显著高于无菌根幼苗, 分别是无菌根幼苗的 1.57 倍和 1.30 倍; 其余接种时期的菌根幼苗与无菌根幼苗相当, 差异不显著。从蒸腾速率来看, 长出真叶后第 0 天接种的菌根幼苗最高, 无菌根幼苗最低, 二者差异显著; 其余接种时期的菌根幼苗与无菌根幼苗之间接近, 差异不显著。从胞间 CO_2 浓度来看, 不同时期接种的菌根幼苗与无菌根幼苗之间差异不显著, 不过长出真叶后第 20 天接种的菌根幼苗(最大)显著高于第 80

天接种的菌根幼苗(最小)。

2.4 喜树幼苗叶片叶绿素荧光参数差异

表3表明,与喜树幼苗叶片的光合色素和气体交换参数相比,叶绿素荧光参数变化较大。 Fv/Fm 反映了

PSII反应中心最大光能转换效率,长出真叶后第20天接种的菌根幼苗 Fv/Fm 最大,无菌根幼苗最小,二者差异显著。

表2 不同接种时期对喜树幼苗叶片气体交换参数的影响

Table 2 Effect of different inoculation time on the photosynthetic characteristics in leaves of *Camptotheca acuminata* seedlings with arbuscular mycorrhizal fungi

处理 Treatment	接种时期 Inoculation time /d	净光合速率 Net photosynthetic rate (Pn) / $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	气孔导度 Stomatal conductance (Gs) / $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	蒸腾速率 Transpiration rate (Tr) / $\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	胞间 CO_2 浓度 Intercellular CO_2 concentration (Ci)/ $\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$
未接种 CK	—	5.22±0.48c	36.32±6.52c	0.85±0.10b	233.36±25.62ab
接种菌根真菌 Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi	0	6.52±0.72a	56.85±4.15a	1.20±0.12a	230.42±30.52ab
	20	6.34±0.68a	47.34±4.20b	0.92±0.09b	262.34±27.42a
	40	5.58±0.62b	42.18±3.08bc	1.09±0.16ab	225.81±26.31ab
	60	5.49±0.12b	35.19±3.25c	0.89±0.09b	239.44±13.43ab
	80	5.25±0.26c	39.27±1.21c	1.01±0.09ab	216.24±20.83b

表3 不同接种时期对喜树幼苗叶片叶绿素荧光参数的影响

Table 3 Effect of different inoculation time on the parameters of chlorophyll fluorescence in leaves of *Camptotheca acuminata* seedlings with arbuscular mycorrhizal fungi

处理 Treatment	接种时期 Inoculation time /d	PSII最大光化学量子产量 Optimal quantum yield of PSII (Fv/Fm)	有效量子产量 The effective quantum yield (EQY)	光化学淬灭 Photochemical quenching (qP)	非光化学淬灭 Non-photochemical quenching (NPQ)
未接种 CK	—	0.768±0.016c	0.184±0.021c	0.623±0.018cd	3.755±0.136a
接种菌根真菌 Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi	0	0.791±0.014a	0.282±0.007a	0.779±0.027a	2.867±0.150d
	20	0.805±0.012a	0.242±0.035b	0.685±0.026b	3.087±0.167cd
	40	0.801±0.005ab	0.142±0.013c	0.641±0.023c	3.469±0.208b
	60	0.797±0.005b	0.148±0.008de	0.663±0.028bc	3.293±0.116bc
	80	0.779±0.012c	0.180±0.014cd	0.597±0.023d	3.368±0.073b

不同接种时期的菌根幼苗之间比较,则是长出真叶后第0天和20天接种的菌根幼苗相近,均显著高于第60天和80天接种的菌根幼苗。

有效量子产量(EQY)反映的是PSII反应中心在部分关闭情况下实际捕获原初光能的效率,长出真叶后第0天和20天接种的菌根幼苗显著高于无菌根幼苗,第40天和60天接种的菌根幼苗显著低于无菌根幼苗,第80天接种的菌根幼苗与无菌根幼苗相当,差异不显著。菌根幼苗之间的差异也比较明显,长出真叶后第0天接种的菌根幼苗显著高于第20、40、60、80天的菌根幼苗。

光化学淬灭(qP)反映了用于光化学电子传递的份额,与EQY相似,长出真叶后第0天和20天接种的菌根幼苗显著高于无菌根幼苗,其余接种时期的菌根幼苗与无菌根幼苗之间差异不显著。菌根幼苗之间仍然是长出真叶后第0天接种的菌根幼苗显著高于第20、40、60、80天的菌根幼苗。

非光化学淬灭(NPQ)反映了不能用于光合电子传递而是耗散掉的光能部分,与 Fv/Fm 、EQY及qP不同,无菌根幼苗的NPQ最大,并且显著高于菌根幼苗。菌根幼苗之间则是长出真叶后第40天和80天接种的菌根幼苗显著高于第0天和20天接种的菌根幼苗。

3 结论与讨论

有研究表明,菌根真菌能够提高宿主植物的叶绿素含量、净光合速率和气孔导度,进而增强植物的光合性能^[9-10],促进植物的生长发育。也有研究认为接种时期不同,对植物的生长促进作用不同^[5,11]。该试验结果也发现,长出真叶后第0天接种菌根真菌的喜树幼苗叶绿素a、b和总叶绿素含量以及净光合速率、气孔导度均为最高,不仅与无菌根幼苗差异显著,而且与第40、60、80天接种的菌根幼苗之间差异也显著。

叶绿素荧光参数在一定程度上反映了光合机构内部对于光能传递与转化的调控,丛枝菌根真菌能够提高植物叶片的 Fv/Fm ^[12]。该研究得出结果类似,长出真叶后第20天接种的菌根幼苗 Fv/Fm 最高,显著高于无菌根幼苗和第60、80天接种的菌根幼苗,说明其PSII反应中心最大光能转换效率较高。长出真叶后第0天和20天接种的菌根幼苗,有效量子产量(EQY)和光化学淬灭(qP)也显著高于无菌根幼苗和第60、80天接种的菌根幼苗,显著或稍高于第40天接种的菌根幼苗。而不能用于光化学电子传递的非光化学淬灭(NPQ)则是长出真叶后第0天和20天接种的菌根幼苗最低。这说明在光能的捕获和利用上,长出真叶后第0天和20天接种的菌根幼苗好于第40、60、80天接种的菌根幼苗。

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] 袁丽环,王文科. 接种 AM 菌根对翅果油树幼苗生长及叶片光合作用的影响[J]. 西北林学院学报,2011,26(4):33-35.
- [3] 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.
- [4] 赵昕,宋瑞清,阎秀峰. 接种 AM 真菌对喜树幼苗生长及光合特性的影响[J]. 植物生态学报, 2009, 33(4): 783-790.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] Trouvelot A, Kough J L, Gianinazzi-pearson V. Mesure du Taux de Mycorrhization VA d'un Systeme Radiculaire. Recherche de Methods d'estimation Ayantune 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.
- [8] Wellburn A R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution[J]. Journal of Plant Physiology, 1994, 144: 307-313.
- [9] 周玉杰,杨福孙,宋希强. 菌根真菌对华山斛幼苗生长及光合性能的影响[J]. 北方园艺, 2009(12): 11-15.
- [10] 袁丽环,王文科. 接种 AM 菌根对翅果油树幼苗生长及叶片光合作用的影响[J]. 西北林学院学报, 2011, 26(4): 33-35.
- [11] 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.
- [12] Zhu X C, Song F B, Liu S Q, et al. Arbuscular mycorrhizae improves photosynthesis and water status of *Zea mays* L. under drought stress[J]. Plant Soil Environment, 2012, 58(4): 186-191.

Effect of Different Inoculation Time on the Photosynthesis Characteristics of *Camptotheca acuminata* Seedlings With Arbuscular Mycorrhizal Fungi

WU Zi-long¹, ZHAO Xin^{1,2}

(1. College of Life Science and Engineering, Handan College, Handan, Hebei 056005; 2. College of Life Science, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040)

Abstract: Taking *Camptotheca acuminata* seedlings as material, the effect of different inoculation time on the photosynthesis of *Camptotheca acuminata* seedlings with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in the greenhouse were studied. The results showed that AM formation was contributed to enhancement of the photosynthetic pigment content, net photosynthetic rate (Pn), stomatal conductance (Gs) and transpiration rate (Tr) in leaves of *C. acuminata* seedlings. But the promoting effect of AMF was got by different inoculation time, and weakened with the delay of inoculation time. The photosynthesis of seedlings inoculated with *Acaulospora mellea* at 0 day and 20 days after grow true leaf was obviously promoted. The chlorophyll a content, chlorophyll b content, total chlorophyll content, Pn, Gs and Tr of seedlings inoculated with *A. mellea* at 0 day after grow true leaf were the highest, and which was remarkable higher than non-mycorrhizal seedlings. Also the effective quantum yield (EQY) and photochemical quenching (qP) was significantly higher than non-mycorrhizal seedlings. The chlorophyll a/b, carotenoid content and maximal photochemical efficiency of PSII in the dark (Fv/Fm) of seedlings inoculated with *A. mellea* at 20 days after grow true leaf were the highest. The photosynthetic pigment content, Pn and Fv/Fm of seedlings inoculated with *A. mellea* over 20 days after grow true leaf, which including the 40 days, 60 days and 80 days were higher than or closed to non-mycorrhizal seedlings. And the promoting effect was very limited.

Key words: *Camptotheca acuminata* seedlings; arbuscular mycorrhiza; photosynthesis characteristics