

DOI:10.11937/bfyy.201519033

深色有隔内生真菌对枸杞的接种效应

石志刚, 王亚军, 安巍, 罗青, 赵建华

(国家枸杞工程技术研究中心, 宁夏银川 750002)

摘要:以“宁杞1号”枸杞为试材,采用盆栽试验,研究了LBF-2和LBF-27两种深色有隔内生真菌(DSE)对枸杞幼苗的接种效应。结果表明:2个DSE菌种对枸杞具有较高的侵染率,均在65.81%以上;2个DSE菌种可提高枸杞对缺水的忍耐性和树体发枝能力;接菌处理的鲜果单果重较对照处理提高了10.53%~24.56%,其中LBF-27接种处理的枸杞果实单果重最大;接种DSE可促进游离脯氨酸在枸杞叶片内的累积,降低丙二醛含量,提高枸杞的抗逆性。

关键词:深色有隔内生真菌;枸杞;接种效应

中图分类号:S 567.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)19-0136-04

枸杞(*Lycium chinense* Miller)是药食同源的功能性食品,是我国西部干旱区的重要经济林木品种,也是沙漠造林的先锋树种^[1]。宁夏回族自治区是典型的西北干旱区,同时也是枸杞的传统道地产区。该地区处于干

旱与半干旱地区,常年缺水少雨,农业灌溉基本依靠黄河水。宁夏的银北地区是典型盐碱区域,因盐碱较重,多数土地都无法进行农作物生长,只能种植枸杞。枸杞是耐旱耐盐碱的经济林木,适应了宁夏的盐碱性土壤,除了枸杞本身特性之外,可能与枸杞共生微生物丰富有关。深色有隔内生真菌(dark septate endophytes, DSE)不是一个科学的分类单元,而是泛指一群定殖于植物根内的小型土壤真菌。这类真菌在不同植物中的一般特征是菌丝颜色较深、具明显横隔,广泛地存在于健康植物根的表皮、皮层甚至维管束组织的细胞内或细胞间隙,能够在植物细胞内或细胞间隙形成“微菌核(microsclerotia)”,但不会在根组织内形成病原菌所引起的病理学特征^[2]。越来越多的试验证据表明,DSE分布广泛,可能具有与

第一作者简介:石志刚(1976-),男,宁夏贺兰人,硕士,副研究员,现主要从事枸杞栽培等研究工作。E-mail:gouqi2000@163.com.

责任作者:王亚军(1979-),男,甘肃定西人,硕士,副研究员,现主要从事枸杞育种及枸杞种质资源等研究工作。E-mail:yajun817@163.com.

基金项目:宁夏回族自治区科技攻关计划资助项目(2011ZYH088);宁夏自然科学基金资助项目(NZ14192)。

收稿日期:2015-05-19

Influence of Zinc and Selenium on Two Kinds of Edible Fungus' Mycelium Biomass and Mannitol Content

ZHANG Cheng, CHEN Hongwei, ZHU Yunlan

(Xuzhou Institute of Technology, Jiangsu Key Construction Laboratory of Food Resource Development and Quality Safe, Xuzhou, Jiangsu 221111)

Abstract: Taking 2 kinds of edible fungus including the needle mushroom and mushroom as test material, the method of liquid fermentation was adopted to culture zinc, selenium-rich mycelium under different content of zinc, selenium respectively. By measuring the mycelium biomass and the content of mannitol, the influence of concentration of zinc, selenium on the content of mannitol in the mycelium biomass was researched. The results showed that, the mannitol content increased gradually with the increase of concentration of zinc. When the concentration of zinc was 500 $\mu\text{g/mL}$, the mannitol content in the needle mushroom mycelium was 20.86%, the mannitol content in the mushroom mycelium was 23.99% for the highest. And when the selenium concentrations was during 0 to 15 $\mu\text{g/mL}$, the mannitol content grew with the concentration of selenium, and during 15 to 25 $\mu\text{g/mL}$, the mannitol concentration decreased.

Keywords: zinc riched; selenium riched; needle mushroom; mushroom; mannitol

菌根真菌类似的生态学功能,在不同生态系统中发挥着重要作用^[3]。ZHANG 等^[4]首次在枸杞根际土壤中发现了深色有隔内生真菌,报道了枸杞共生菌根真菌和深色有隔内生真菌的定殖状况,并进行了分离培养,获得了 LBF-2 和 LBF-27 等纯菌株。ZHANG 等^[5]研究了 DSE 菌种 LBF-2 对枸杞的接种效应,发现 LBF-2 对枸杞幼苗的生长和光合有很好的促进作用。该试验通过 2 种 DSE 菌种 LBF-2 和 LBF-27 对枸杞的植株发育及生理生化指标的调查研究,分析了 DSE 菌种对枸杞的接种效应,以期 DSE 菌种在枸杞种植业中的应用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为枸杞品种“宁杞 1 号”的无性扦插苗。SE 菌株:LBF-2 和 LBF-27,均引自西北农林科技大学林学院自主分离菌株。

基质土选自宁夏银川市芦花台园林场枸杞生产园。土为未施肥的行间土。基质土的本底值如下:pH 8.16,全盐 1.48 g/kg,有机质 12.0 g/kg,全氮 0.90 g/kg,全磷 0.58 g/kg,全钾 19.0 g/kg,速效氮 110 mg/kg。

1.2 试验方法

1.2.1 苗木繁育 育苗方法采用枸杞嫩枝扦插育苗技术,育苗场地为日光温室,采用倒挂微喷装置进行温湿度控制。育苗时,选用半木质化的“宁杞 1 号”绿枝作为扦插插穗。育苗苗床为 5 cm 厚的细河沙,先采用多菌灵进行苗床杀菌。扦插前,将插穗速蘸自配生根剂,轻轻插入打好的孔中,轻捏封口。扦插的株行距为 5 cm×10 cm,扦插深度为 2~3 cm。利用棚膜封闭,采用 75% 的遮阴网进行遮阴处理,喷水,湿度控制在 80% 为宜,室内温度<45℃,维持以上条件管理 30 d 后,逐步通风练苗,练苗 7 d 后,撤膜。

1.2.2 接种方法 每个花盆的规格为 150 mm×130 mm×150 mm,先填充 1/3 的培养基质土。选取生长健壮、苗高和地径一致的枸杞扦插苗,每盆 1 株。该试验设计 4 个处理,处理 1:对照(CK),接种 6 个培养基饼,每盆直径 5.0 mm;处理 2:接种 LBF-2,接菌量为 6 个菌饼,每盆直径 5.0 mm;处理 3:接种 LBF-27,接菌量同处理 2;处理 4:2 个菌种的混合接种,每菌种各 3 个菌饼。将活化菌剂接种至幼苗根部,每处理 15 盆,共 60 盆,随机排列,每隔 14 d,随机调整盆子排列顺序消除边缘效应。

1.3 项目测定

1.3.1 生理指标 接种 60 d 后,游离脯氨酸和丙二醛(MDA)含量测定采用高俊凤^[6]的方法。游离脯氨酸含量测定采用比色法;丙二醛含量测定采用分光光度计法。

1.3.2 DSE 侵染分析 侵染率采用弓明钦等^[7]的染色方法。染色后,将根样放到乳酸甘油中浸泡除去多余的染料、制片,在显微镜下观察统计根段中 DSE 侵染的根段数,计算侵染率:侵染率(%)=感染的根段数/检查根段总数×100。

1.3.3 树体生长发育调查 接种 60 d 后,调查枸杞树体生长发育情况。调查指标有发枝数、萌枝率和萎蔫率。发枝数指每处理中试验苗木的平均单株树体枝条量;萌枝率指每处理中萌发新枝的试验苗木占该处理总苗木数的百分比;萎蔫率指每处理中萎蔫苗木占该处理总苗木数的百分比。

1.3.4 土壤含水量 该试验中不进行人工浇水,待枸杞幼苗干旱萎蔫时测定土壤含水量。土壤含水量的测定采用称重法(Gravimetric),也称烘干法。用土钻采取土样,用 0.1 g 精度的天平称取土样的重量,记作土样的湿重 M,在 105℃ 的烘箱内烘 7 h 至恒重,然后测定烘干土样,记作土样的干重 Ms。土壤含水量(%)=(烘干前铝盒及土样质量 M—烘干后铝盒及土样质量 Ms)/(烘干后铝盒及土样质量 Ms—烘干空铝盒质量 M₀)×100。

2 结果与分析

2.1 DSE 真菌对枸杞侵染情况

由图 1 和表 1 可知,4 个处理中,接种处理的枸杞根系中 DSE 的侵染率均高于对照,均在 65.81% 以上,而对照仅为 10.01%。该调查结果发现,对照处理仍有 DSE 的侵染,说明该试验采用的基质土因未进行土壤杀菌消毒,土壤中所含有的 DSE 真菌的繁殖体能够侵染试验枸杞苗木;接种 LBF-2 和 LBF-27 均能提高 DSE 对枸杞的侵染率,以 LBF-27 对枸杞的侵染率较高;混合接种的侵染率介于单一接种之间,说明混合接种不能提高枸杞的接种侵染率。由此说明,从枸杞上分离纯化的 DSE 菌种,对枸杞仍保持较高的侵染率,可作为接种剂使用。

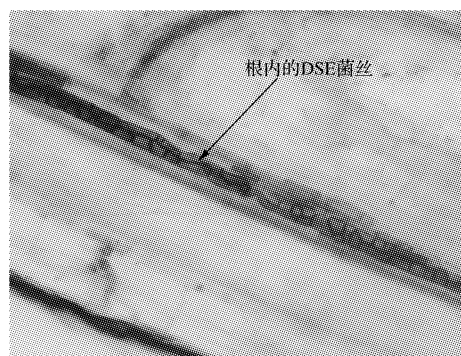


图 1 枸杞根系中的 DSE 菌丝

Fig. 1 DSE hyphae of in the cell gap of wolfberry's root

表 1 DSE 对枸杞根系的侵染率

Table 1 The colonization rate of DSE in wolfberry's root

处理	侵染率/%
CK	10.01
LBF-2	65.81
LBF-27	81.29
混合	78.34

2.2 DSE 真菌接种对枸杞树体发枝数的影响

由表 2 可知,不同处理剪口下的发枝数依次为 LBF-2>LBF-27>CK>混合,说明相对于对照处理,2 个 DSE 菌种 LBF-2 和 LBF-27 在促进发枝力方面具有促进作用,但 2 个菌种的混合接种处理的树体发枝数较低;树体萌枝率的顺序为 LBF-27=混合>LBF-2>CK,说明相对于对照处理,2 个 DSE 菌种 LBF-2 和 LBF-27 在促进树体萌发新枝方面具有促进作用。

表 2 不同处理的枸杞发枝能力

Table 2 The branching ability of wolfberry in different treatments

处理	发枝数/支	萌枝率/%
CK	3.33	18.18
LBF-2	4.08	26.67
LBF-27	3.67	40.00
混合	3.00	40.00

2.3 DSE 真菌接种对枸杞树体表现的影响

由表 3 可以看出,各处理萎蔫率为 LBF-27>CK>混合>LBF-2。由此说明,同样管理下,混合接种和 LBF-2 更能提高枸杞对缺水的忍耐性。比较各处理的暂时萎蔫的土壤含水量,大小顺序依次为:CK>LBF-2>LBF-27>混合,由此可见,接种 DSE 菌种能够提高枸杞苗木对缺水环境的忍耐力,从而提高枸杞的抗旱性;在持续不供水的情况下,各处理萌生新枝苗木的土壤含水量为 CK>LBF-2>LBF-27>混合,可见,LBF-2、LBF-27 和混合接种的土壤含水量均低于对照,说明 2 种 DSE 菌种的单一接种和混合接种可以促进枸杞在相对较低的土壤水平下继续生长发育。由此可见,接种 DSE 菌种可明显提高枸杞苗木对缺水条件的忍耐力,从而提高枸杞的抗旱性。

表 3 不同处理的枸杞萎蔫率及土壤含水量状况

Table 3 The wilted percent and soil moisture content of wolfberry in different treatments %

处理	萎蔫率	暂时萎蔫的土壤含水量	萌生新枝的土壤含水量
CK	18.18	5.62	6.51
LBF-2	6.67	4.56	5.03
LBF-27	20.00	4.43	4.81
混合	10.00	4.37	4.52

2.4 DSE 真菌接种对枸杞果实大小的影响

表 4 表明,不同处理的果实大小差异较大。接种 DSE 真菌处理的鲜果单果重较对照处理提高了 10.53%~24.56%;DSE 菌种 LBF-27 接种处理的枸杞果实单果重最大,平均单果重为 0.71 g,较对照处理提高了

24.56%,同时果实的纵横径均高于其它处理,枸杞鲜果的纵横径比小于其它处理,说明该处理的果实较其它处理圆;比较各接种处理的果实单果重来看,混合接种处理的果实介于 LBF-2 和 LBF-27 接种处理,说明 2 种 DSE 菌种之间没有协同效应,2 菌种可能存在相互的抑制作用。

表 4 不同处理的枸杞果实性状

Table 4 The fruit shapes and properties of wolfberry in different treatments

处理	单果重/g	较对照提高/%	纵径/cm	横径/cm	纵横比
CK	0.57	—	1.38	1.11	1.24
LBF-2	0.63	10.53	1.44	1.21	1.19
LBF-27	0.71	24.56	1.70	1.54	0.97
混合	0.68	19.30	1.43	1.33	1.08

2.5 DSE 真菌接种对枸杞叶片游离脯氨酸的影响

游离脯氨酸含量的高低是衡量植物抗逆性的重要指标。在干旱胁迫下,脯氨酸含量高则表示植物抗旱性强,反之则弱。由图 2 可以看出,各处理的枸杞叶片游离脯氨酸含量为 LBF-27>混合>LBF-2>CK,说明就游离脯氨酸含量而言,DSE 菌种的接种可促进游离脯氨酸在枸杞叶片内累积,提高枸杞的抗旱性;LBF-27 接种处理的枸杞叶片脯氨酸含量最高,说明 LBF-27 真菌提高枸杞抗旱性的作用明显;从各处理的枸杞叶片脯氨酸含量来看,混合接种处理的脯氨酸含量并没有表现出 LBF-2 和 LBF-27 的叠加效应,而是在 LBF-2 和 LBF-27 处理之间。

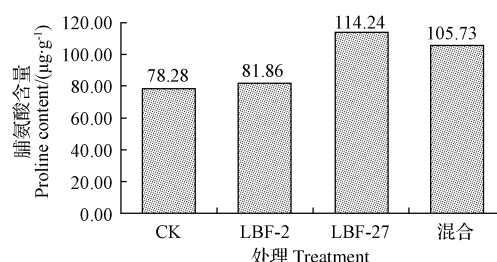


图 2 DSE 真菌接种对枸杞叶片脯氨酸含量的影响

Fig. 2 The effect of DSE fungi on proline content in the leaves of wolfberry

2.6 DSE 真菌接种对枸杞叶片丙二醛(MDA)含量的影响

丙二醛(MDA)含量的高低也是反映植物抗逆性的重要指标,主要显示的是植物的膜脂过氧化程度。在干旱胁迫下,丙二醛含量高则表示植物的膜脂过氧化程度高,抗旱性差,反之则强。接种 4 个月后,调查不同处理的枸杞叶片丙二醛含量。

由图 3 可以看出,各处理的枸杞叶片丙二醛含量为 CK>混合>LBF-27>LBF-2;从各处理叶片内的丙二醛含量来看,接种处理均低于对照,说明就丙二醛含量而

言,DSE 菌种的接种可降低丙二醛在枸杞叶片内累积,提高枸杞的抗旱性;LBF-2 接种处理的枸杞叶片丙二醛含量最低,说明 LBF-2 真菌可促进枸杞抗旱性的提高;混合接种处理的丙二醛含量介于 LBF-2 和 LBF-27 2 菌种的单一接种,说明 2 菌种混合后没有表现出协同效应。

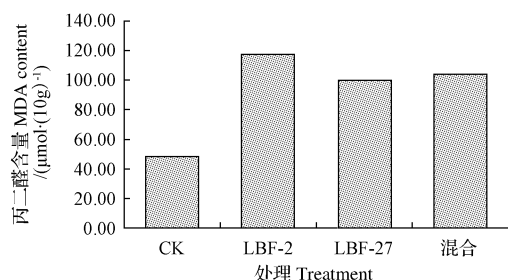


图3 DSE 真菌接种对枸杞叶片 MDA 含量的影响

Fig. 3 The effect of DSE fungi on MDA content in the leaves of wolfberry

3 讨论与结论

该研究通过在枸杞幼苗时期接种 2 种 DSE 真菌,研究 DSE 真菌对枸杞的接种效应。结果表明,LBF-2 和 LBF-27 菌种对枸杞幼苗的生长和果实发育以及生理生化指标具有促进作用,具有进一步深入研究的价值。土壤是微生物的大本营,含有丰富的微生物资源,其中也不乏对植物具有促进作用的有益微生物。盛敏等^[8]研究认为甘肃、宁夏和内蒙古盐碱土中 AM 真菌种类丰富,共鉴定出 28 种 AM 真菌;枸杞的共生菌根真菌丰富,从枸杞根际土壤中已鉴定出 6 种菌根真菌^[9]。王亚军等^[10]研究认为,枸杞的共生菌根真菌侵染率为 85.80%,侵染强度为强;ZHANG 等^[4]首次在枸杞的根

际土壤中发现了深色有隔内生真菌(DSE)。枸杞的抗性较强,虽具有耐旱、耐盐碱、耐沙荒等特性,但在极端的盐碱环境下,枸杞的生长发育也会造成严重影响。郑国琦等^[11]研究认为,在 9~12 g/kg NaCl 胁迫下,枸杞叶片由下向上逐渐发黄脱落,生长严重受抑。因此,研究枸杞根际土壤中的有益微生物,挖掘具有提高植物抗逆性的有益微生物资源,并探索其对枸杞的接种效应,在枸杞栽培和种植方面具有重要的现实意义。

参考文献

- [1] 曹有龙,何军. 枸杞栽培学[M]. 银川:阳光出版社,2013.
- [2] 刘茂军,张兴涛,赵之伟. 深色有隔内生真菌(DSE)研究进展[J]. 菌物学报,2009,28(6):888-894.
- [3] 张玉洁. 植物深色有隔内生真菌(DSE)的研究进展[J]. 文山学院学报,2010,23(1):145-150.
- [4] ZHANG H H, TANG M, CHEN H, et al. Arbuscular mycorrhizas and dark septate endophytes colonization status in medicinal plant *Lyceum barbarum* L. in arid Northwestern China[J]. African Journal of Microbiology Research, 2010,4(18):1914-1920.
- [5] ZHANG H H, TANG M, CHEN H, et al. The journal of microbiology of a dark-septate endophytic isolate LBF-2 on the medicinal plant *Lyceum barbarum* L. [J]. The Journal of Microbiology, 2012,50(1):91-96.
- [6] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安:世界图书出版社,2000.
- [7] 弓明钦,陈应龙,仲崇禄. 菌根研究及应用[M]. 北京:中国林业出版社,1997.
- [8] 盛敏,唐明,张峰峰,等. 土壤因子对甘肃、宁夏和内蒙古盐碱土中 AM 真菌的影响[J]. 生物多样性,2011,19(1):85-92.
- [9] 盛敏. VA 菌根真菌提高玉米耐盐性机制与农田土壤微生物多样性研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2008.
- [10] 王亚军,罗青,马萍,等. 枸杞共生菌根真菌的侵染特性[J]. 广东农业科学,2013(15):91-92.
- [11] 郑国琦,马宏伟,许兴. 胁迫下宁夏枸杞盐分与甜菜碱累积及其与光合作用的关系[J]. 中国生态农业学报,2003,11(3):51-54.

Inoculating Effect of Dark Septate Endophytes Fungi on Wolfberry

SHI Zhigang, WANG Yajun, AN Wei, LUO Qing, ZHAO Jianhua

(National Wolfberry Engineering Research Center, Yinchuan, Ningxia 750002)

Abstract: Taking wolfberry as test material, the inoculating effect of two kinds of dark septate endophytes(DSE), LBF-2 and LBF-27 on wolfberry was investigated by pot experiment in this paper. The results showed that two kinds of dark septate endophytes(DSE), LBF-2 and LBF-27 had high colonization rate to wolfberry. The colonization rate was more than 65.81%. The DSE could promote the endurance to water loss and branching ability of wolfberry. The fruit weight of inoculating treatments were 10.53%—24.56% higher than that of CK. The average fruit weight of inoculating LBF-27 was the highest among treatments, 24.56% higher than that of CK. The inoculating DSE fungi treatments could promote free proline accumulating and decrease MDA content in the leaves of wolfberry, and improve the resistance of wolfberry, especially in the treatment of LBF-27. There was no synergistic effect between LBF-27 and LBF-2.

Keywords: dark septate endophytes; wolfberry; inoculating effect