

不同丛枝菌根真菌对甘草生长和保护酶活性的影响

邹原东, 高琼, 毕红艳, 范继红

(北京农业职业学院 园艺系, 北京 102442)

摘要:以乌拉尔甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)为试材,研究5种AM真菌(*Acaulospora mellea*、*Glomus mosseae*、*Glomus versiforme*、*Glomus aggregatum*、*Glomus etunicatum*)对甘草生长及保护酶活性的影响。结果表明:接菌后的植株株高、地径、主根长、地上部分鲜质量、地下部分鲜质量、地上部分干质量、地下部分干质量和对照(不接菌的植株)相比增加明显。接菌植株的生长指标显著高于对照($P<0.05$),超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性呈现先升高后下降的趋势,过氧化氢酶(CAT)活性呈现持续上升的趋势。不同接菌菌种对植株生长的影响差异明显。研究结果表明,接种*Glomus etunicatum*、*Glomus mosseae*、*Glomus aggregatum*对甘草的生长促进效果显著,在抵御外界不良环境方面优于其它菌种。

关键词:甘草; AM真菌; 生长; 保护酶

中图分类号:S 567.23⁺⁹ **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2017)12—0162—05

丛枝菌根(Arbuscular mycorrhiza, AM)是一种较为常见的内生菌根,能够与植物根系形成共生,促进植物对营养物质的吸收,增强植物的抵抗力^[1]。研究表明,丛枝菌根在抗性、抵御土壤污染、改良土壤及改善果实品质等方面研究广泛,应用前景较为广阔。丛枝菌根庞大的菌丝网会增大植物根系的吸

第一作者简介:邹原东(1980-),男,硕士,讲师,研究方向为植物栽培与生理生态。E-mail:zyyddd@163.com。

责任作者:范继红(1974-),女,博士,副教授,现主要从事生态学及菌根学等研究工作。E-mail:378185557@qq.com。

基金项目:北京市自然科学基金资助项目(6142005)。

收稿日期:2016—12—07

收面积,促进滇柏和楸树在干旱条件的水分吸收,还可以防止体内水分的丧失^[2]。王丽萍等^[3]研究发现丛枝菌根促进了玉米植株的生长和根系发育,而生物量的增加对石油污染土壤的修复效果明显。吴建新等^[4]研究发现,丛枝菌根促进了根系的营养元素的吸收,提高了草莓的品质。该试验以乌拉尔甘草为研究对象,采用5种较为常见的AM真菌,通过接种后观察不同菌种对甘草生长的影响,筛选出华北区域内促进甘草生长和适应环境较为优良的菌种,以期为接下来的生产和大面积推广提供借鉴和参考依据。

Abstract:Based on the single factor experiment, the method of Box-Behnken response surface design was used to optimize the extraction process of selenium-polysaccharide in *Lentinus edodes* fermentation broth. The results showed that the optimum alcohol extraction time of selenium-polysaccharide was 15.45 hours, ethanol concentration 82.30% and pH 7.95. Under these conditions, the yield of selenium-polysaccharide in the fermentation broth of selenium-enriched *Lentinus edodes* was 3.23 g·L⁻¹, and the selenium content of selenium-polysaccharide was 87.67 μg·g⁻¹. Using the Box-Behnken response surface design method, the extraction parameters of selenium-polysaccharide from the selenium-enriched *Lentinus edodes* fermentation broth could provide the necessary technical support for the industrial production.

Keywords:*Lentinus edodes*; selenium-polysaccharide; Box-Behnken design; regression model analysis; response surface analysis

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试鸟拉尔甘草(*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.)种子购于北京时珍中草药技术有限公司。所用菌种(蜜色无梗囊霉 *Acaulospora mellea*, 摩西球囊霉 *G. mosseae*, 地表球囊霉 *G. versiforme*, 聚丛球囊霉 *G. aggregatum*, 幼套球囊霉 *G. etunicatum*)均购于北京市农林科学院植物资源与营养研究所。供试基质采用混合配制基质, 分别用草炭+蛭石+沙子混合作接种基质, 草炭: 蛭石: 沙子=1:0.5:1, 基质于121 °C下高压湿热灭菌2 h, 晾晒备用。

1.2 试验方法

试验于2015年在北京农业职业学院绿色科技示范园智能温室进行。播种前进行种子浸种消毒。先用1%高锰酸钾溶液将种子消毒30 min, 流水冲洗干净, 再以清水浸种1 d。浸种后将种子取出, 先用清水冲洗干净, 再用1%高锰酸钾溶液消毒10 min。将种子均匀摊到已高温消毒的湿纱布上, 上面再覆盖一层湿纱布进行催芽, 种子露白后进行播种, 播种同时接菌。

栽植盆选用塑料盆, 上口径25 cm, 盆底直径20 cm, 高40 cm, 栽植盆使用前用2%高锰酸钾溶液消毒10 min, 每盆装基质到35 cm处。每盆接种10 g菌剂, 每个处理20盆, 每盆5棵。以常规管理为主, 根据试验安排酌情浇水, 每隔1个月浇1次Hoagland营养液, 以不接种AM真菌直接栽植甘草为对照。

1.3 项目测定

选取接菌后甘草的幼苗期、快速生长期、生长由快转慢时期3个阶段测定株高、地径及保护酶活性; 并在生长由快转慢时期测定主根长及地上地下鲜质量、干质量, 地径为距地面5 cm处直径。测定生长

表1 丛枝菌根对甘草生长量的影响

菌种名称 Strain name	苗高 Plant height/cm	地径 Basal diameter/mm	主根长 Taproot length/cm	鲜质量 Fresh weight/g		干质量 Dry weight/g	
				地上	地下	地上	地下
Am	16.86±2.23c	0.85±0.12c	13.68±1.65b	0.81±0.18d	0.35±0.06d	0.26±0.04d	0.14±0.03c
Gm	39.63±2.93a	1.28±0.08a	15.56±2.63a	1.63±0.13c	0.96±0.17bc	0.57±0.06c	0.43±0.11b
Gv	36.17±3.35a	1.15±0.06ab	14.54±2.20a	2.91±0.30b	0.73±0.07c	1.04±0.15b	0.29±0.05bc
Ga	39.40±2.18a	1.19±0.10ab	15.40±2.10a	2.85±0.18b	1.00±0.12b	1.05±0.08b	0.44±0.06b
Ge	39.92±5.25a	1.32±0.17a	17.36±4.72a	3.95±0.29a	1.90±0.12a	1.51±0.25a	0.95±0.19a
CK	30.41±4.12b	1.03±0.11bc	12.84±2.30b	1.31±0.15c	0.36±0.06d	0.42±0.05cd	0.13±0.03c

注: 不同小写字母表示在0.05水平上差异显著。Am: *Acaulospora mellea*, Gm: *G. mosseae*, Gv: *G. versiforme*, Ga: *G. aggregatum*, Ge: *G. etunicatum*, CK: 对照。下同。

Note: Different lowercase letters in the same line show significant difference at 0.05 level. Am: *Acaulospora mellea*, Gm: *G. mosseae*, Gv: *G. versiforme*, Ga: *G. aggregatum*, Ge: *G. etunicatum*, CK: control. The same below.

量指标时, 按照随机取点的方法对每个阶段的处理选取5个固定重复点进行取样和测量。SOD活性测定采用四氮唑蓝(NBT)光还原法^[5], POD活性测定采用愈创木酚法^[6], CAT活性测定采用高锰酸钾滴定法^[6]。

2 结果与分析

2.1 丛枝菌根对甘草植株生长量的影响

2.1.1 丛枝菌根对甘草株高和地径的影响 从表1可以看出, 接种不同菌根对甘草的生长影响有所差异。随着生长的进行, 接菌处理的植株高度增加明显; 5种接菌的植株高度分别比对照增加-44.56%、30.32%、18.94%、29.55%、31.26%, 接种*G. etunicatum*的处理株高增加幅度最大。经方差分析, 接种*G. etunicatum*、*G. mosseae*、*G. aggregatum*、*G. versiforme*处理的株高与接种*Acaulospora mellea*处理及对照差异显著。5种接菌的植株地径分别比对照增加-17.32%、22.57%、12.32%、16.02%、28.34%, 接种*G. etunicatum*处理的地径增加幅度最大。经方差分析, 接种*G. etunicatum*、*G. mosseae*处理的地径与接种*Acaulospora mellea*的处理及对照差异显著。接种*Acaulospora mellea*处理植株高度和地径表现为负增长, 这可能与菌种的活性、接菌的不规范、取样的一致性、管理或试验中操作不当有关。

2.1.2 丛枝菌根对主根长、鲜质量和干质量的影响

由表1可知, 甘草在不同接菌处理下的主根长与对照相比有明显差异, 接菌后的主根长度较对照分别增加6.54%、21.18%、13.24%、19.94%、35.20%, 由方差分析可知, 接种*G. etunicatum*、*G. mosseae*、*G. aggregatum*处理的甘草主根显著长于接种*Acaulospora mellea*处理和对照。接种*G. etunicatum*处理鲜质量和干质量显著高于其它处理。

2.2 丛枝菌根对甘草保护酶活性的影响

2.2.1 丛枝菌根对甘草 SOD 活性的影响 从图 1 可以看出, SOD 活性在甘草生长的进程中先升高后下降。在生长初期, 从 6 月 11 日的数据可以看出, 接种 *G. aggregatum* 处理的 SOD 活性高于其它处理; 随着生长加快, 外界环境也在不断发生变化, 进入 7 月后当地迎来高温天气, 植株也面临着干旱的威胁, SOD 活性呈快速上升趋势, 从 8 月 5 日的数据也可以看出对照的 SOD 活性最高, 分别比接种

表 2 丛枝菌根对甘草保护酶影响的均值比较及显著性分析

Table 2 Mean comparison and significance analysis of effect of the AM on the protective enzyme activity of *G. uralensis*

	Am	Gm	Gv	Ga	Ge	CK
超氧化物歧化酶活性 SOD activity	89.28±6.27ab	80.99±4.96b	75.57±20.46b	86.26±7.63ab	88.05±8.98ab	110.26±7.66a
过氧化物酶活性 POD activity	59.14±6.31a	53.36±2.88ab	56.69±3.29a	48.44±2.17b	47.50±5.46b	58.06±1.87a
过氧化氢酶活性 CAT activity	1.72±0.30b	1.61±0.08b	1.59±0.12b	2.72±0.13a	2.80±0.49a	2.95±0.66a

2.2.2 丛枝菌根对甘草 POD 活性的影响 从图 2 可以看出, 生长的前期各接菌处理 POD 活性都高于对照; 生长进入快速期后, 所有接菌处理 POD 活性升高, 从 8 月 5 日的数值来看, 对照的 POD 活性最高; 进入后期, 各接菌处理 POD 活性较 8 月 5 日有所下降, 接种 *G. versiforme* 的处理的 POD 活性下降最多, 达到 61.80%, 从数值上看, 对照的 POD 活性大于其它处理。由表 2 可知, 接种 *Acaulospora mellea* 处理的 POD 活性与接种 *G. aggregatum*、*G. etunicatum* 的处理差异显著。

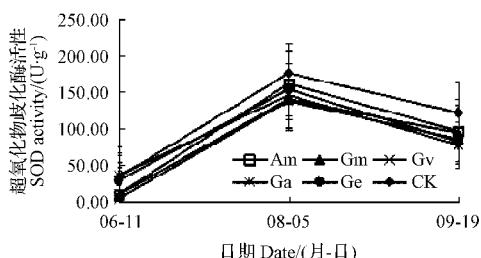


图 1 丛枝菌根对 SOD 活性的影响

Fig. 1 Effect of the AM on the SOD activity of *G. uralensis*

2.2.3 丛枝菌根对甘草 CAT 活性的影响 由图 3 可知, 前 2 个阶段的所有接菌处理 CAT 活性差别不是很大, 约 0.24~3.50 倍; 最后一个阶段所有处理的 CAT 活性上升明显。8 月 6 日接种 *Acaulospora mellea*、*G. mosseae*、*G. versiforme* 处理的 CAT 活性高于对照, 而到了 9 月 20 日所有接菌处理 CAT 活性全部低于对照。由表 2 可知, 接种 *G. etunicatum*、*G. aggregatum* 处理 CAT 活性与接种 *Acaulospora*

mellea、*G. etunicatum*、*G. aggregatum*、*G. mosseae*、*G. versiforme* 处理高出 8.92%、14.54%、20.79%、25.43% 和 27.89%; 之后的时期甘草处于高温干旱威胁减弱的态势下, SOD 活性也随之下降, 下降的趋势明显, 9 月 19 日接种 *G. aggregatum* 处理的 SOD 活性最低。由方差分析得知, 对照的 SOD 活性与接种 *G. mosseae*、*G. versiforme* 处理差异显著 (表 2)。

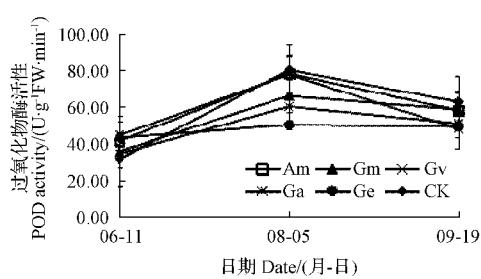


图 2 丛枝菌根对 POD 活性的影响

Fig. 2 Effect of the AM on the POD activity of *G. uralensis*

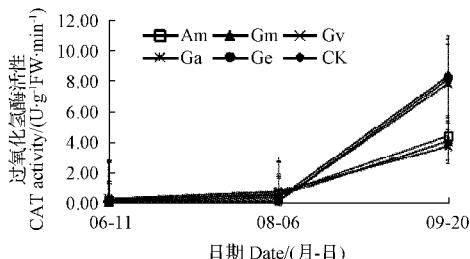


图 3 丛枝菌根对 CAT 活性的影响

Fig. 3 Effect of the AM on the CAT activity of *G. uralensis*

mellea、*G. mosseae*、*G. versiforme* 处理的差异显著。

3 结论与讨论

研究表明, 植物在接菌后自身的生长得到促进, 株高的增长较为明显, 但增长的幅度在不同菌种间差异明显^[7-8]。在低温、干旱、污染等胁迫环境的影响下, 接种菌根往往能够增强根系活力^[9], 提高根际环境内固氮酶活性^[10], 为根系周边提供了充足的营

养环境^[11],促进植物的生长^[12~14]。而在一定范围的盐胁迫条件下,丛枝菌根真菌能够扩大营养物质吸收面积,增大红花地下部分干质量,调节根系周边矿物质营养,进而改善了其周边的渗透调节环境促进生长^[15]。另外,吴慧凤等^[16]研究发现,多种真菌可在幼苗期与铁皮石斛形成共生关系,增加其生物量,促进其生长。但也有研究表明,对植物生长的促进作用因不同菌种、不同作物而不同^[17]。刘爱荣等^[18]研究表明,丛枝菌根在营养物质较高的基质环境下,黄瓜苗期接种AMF促生效果明显。可见,不同环境对菌根促进植物生长也有一定影响。

植物的生长、发育、衰老、死亡是生命的循环,是自然规律,在这一过程中植物自身所形成的保护系统在适宜的范围内能够抵御来自外界不良环境的干扰。现代学说普遍认为,植物衰老和逆境中体内的活性氧和氧自由基含量升高,而活性氧主要包括过氧化氢、羟自由基和超氧阴离子,其体内SOD、POD、CAT是植物体内广泛存在的3种保护酶,在清除活性氧方面能够形成保护酶系统,有效发挥协同作用,而POD和CAT同样具有清除过氧化氢的功能^[19~21]。

通过对花生^[22]、油松^[23]的SOD活性与水分胁迫关系的研究发现,水分胁迫初期,SOD活性下降,植物对外界表现出不适应,但随着水分胁迫的加剧,植物适应性增强,其SOD活性上升,SOD活性在不同品种之间的差异表现明显。也有研究发现,适度水分胁迫下SOD、POD、CAT活性大幅度提高,随着水分胁迫程度的加剧,活性氧代谢平衡遭到破坏,膜脂过氧化加剧,SOD活性下降^[24],POD、CAT活性持续上升,根系主根长随着水分胁迫天数的延长而增加^[25]。马德华等^[26]研究发现,在遭受低温的胁迫下,对低温耐性强的品系其SOD活性上升,耐性弱的品系SOD活性下降;而在高温胁迫下,各品系的SOD活性均下降。但也有学者持相反观点,低温能增加植物体内活性氧含量,降低SOD活性,加强膜脂过氧化作用^[27]。在盐胁迫的条件下,随着盐浓度的升高,POD和SOD活性先上升后下降。

孔静等^[28]通过对接菌紫花苜蓿研究发现,随着水分胁迫的加剧,接菌苜蓿叶片的SOD、POD、CAT的活性下降明显,胡桂馨等^[29]发现水分胁迫下接菌后高羊茅的茎中POD活性显著低于未接菌植株,而叶片CAT活性却升高。菌根真菌对水分胁迫的反应受水分胁迫程度、寄主植物的影响,过程比较复杂^[30]。但可以肯定的是通过接菌,甘草的根系可以

形成菌根,在一定程度上可以形成保护系统,菌根真菌有很大概率可降低植物体内氧自由基含量,减轻外界逆境环境受到的伤害^[31~32]。

该研究发现,接种菌根后甘草的株高、地径、主根长、地上部分及地下部分鲜质量、地上部分及地下部分干质量和不接菌甘草相比都有相应的增加,这与张中峰等^[33]研究结果一致,但不同菌种对植株生长的影响差异明显。综合各项指标,接种幼球囊霉菌、摩西球囊霉菌及聚丛球囊霉菌对甘草的生长促进作用显著。随着植株的生长,SOD和POD活性先升高后下降,CAT活性持续上升,接种*G. etunicatum*、*G. aggregatum*、*G. mosseae*后甘草植株的保护酶活性显著低于其它处理,同时在抵御外界不良环境方面优于其它菌种。但也要考虑到该试验浇水时间间隔不长,高温或者水分胁迫是否会影响到植株的生长还需做重复试验继续观察。未来可选择从不同逆境、不同生态条件等方面,对接菌甘草的抗逆性、生态适应性等进行更深入的研究。

参考文献

- [1] 王保民,任荫圃.丛枝菌根应用研究进展[J].湖北农业科学,2004(3):56~59.
- [2] 王如岩,李水强,张金池,等.干旱胁迫下接种菌根真菌对滇柏和楸树幼苗根系的影响[J].南京林业大学学报(自然科学版),2012,36(6):23~27.
- [3] 王丽萍,郭光霞,华素兰,等.丛枝菌根真菌:植物对石油污染土壤修复实验研究[J].中国矿业大学学报,2009,38(1):91~95.
- [4] 吴建新,王有珊,左强,等.接种丛枝菌根真菌对草莓基质育苗生长及果实品质的影响[J].北方园艺,2011(15):49~50.
- [5] 中国科学院上海植物生理研究所.现代植物生理学实验指南[M].北京:科学出版社,2004.
- [6] 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,2001.
- [7] 韩冰,徐刚,郭世荣,等.丛枝菌根真菌对苗期黄瓜生长及生理特性的影响[J].江苏农业学报,2012,28(6):1392~1397.
- [8] 马放,苏蒙,王立,等.丛枝菌根真菌对小麦生长的影响[J].生态学报,2014,34(21):6107~6114.
- [9] 黄万荣,柳振亮,秦岭,等.漏斗孢球囊霉(*Glomus mosseae*)菌根真菌对冷海棠幼苗生长的影响[J].北京农学院学报,1991,6(2):24~30.
- [10] 林丽,张新成,李杨瑞,等.甘蔗器官固氮酶活性及其对接种固氮菌的响应[J].西北植物学报,2008,28(12):2472~2477.
- [11] 耿春女,李培军,陈素华,等.不同丛枝菌根真菌对万寿菊生长及柴油降解率的影响[J].应用生态学报,2003,14(10):1775~1779.
- [12] 闫妍,孙超,于贤昌,等.低温胁迫对接种丛枝菌根真菌番茄幼苗生理特性的影响[J].中国农业大学学报,2011,16(6):64~69.
- [13] 马琼,黄建国,蒋剑波.接种外生菌根真菌对马尾松幼苗生长的影响[J].福建林业科技,2005,32(2):85~88.
- [14] 任祺,王建武,冯远娇,等.丛枝菌根真菌侵染Bt玉米及对其生长的影响[J].生态学杂志,2011,30(6):1163~1168.

- [15] 徐瑶,樊艳,俞云鹤,等.丛枝菌根真菌对盐胁迫下红花幼苗生长及耐盐生理指标的影响[J].生态学杂志,2014,33(12):3395-3402.
- [16] 吴慧凤,宋希强,杨福孙,等.共生真菌对铁皮石斛幼苗生理特性的影响[J].植物科学学报,2011,29(6):738-742.
- [17] 武美燕,蒿若超,张文英.印度梨形孢真菌对干旱胁迫下紫花苜蓿生长及抗旱性的影响[J].草业学报,2016,25(5):78-86.
- [18] 刘爱荣,陈双臣,刘燕英,等.丛枝菌根真菌对低温下黄瓜幼苗光合生理和抗氧化酶活性的影响[J].生态学报,2011,31(12):3497-3503.
- [19] 田国忠,李怀芳,裘维蕃,等.植物过氧化物酶研究进展[J].武汉植物学研究,2011,19(4):332-344.
- [20] 王晶懋,张楚涵,同庆伟,等.植物抗旱的生理渗透调节及保护酶活性研究进展[J].黑龙江生态工程职业学院学报,2012,25(2):31-33.
- [21] 南芝润,范月仙.植物过氧化氢酶的研究进展[J].安徽农学通报,2008,14(5):27-29.
- [22] 姜慧芳,任小平.干旱胁迫对花生叶片 SOD 活性和蛋白质的影响[J].作物学报,2004,30(2):169-174.
- [23] 王琰,陈建文,狄晓燕.水分胁迫下不同油松种源 SOD、POD、MDA 及可溶性蛋白比较研究[J].生态环境学报,2011,20(10):1449-1453.
- [24] 刘艳,蔡贵芳,陈桂林.干旱胁迫对甘草幼苗活性氧代谢的影响[J].中国草地学报,2011,34(5):93-98.
- [25] 张希吏,王萍,石磊,等.干旱胁迫对沙芥幼苗根系形态及抗氧化酶活性的影响[J].干旱地区农业研究,2016,34(3):160-164.
- [26] 马德华,孙其信.温度逆境对不同品种黄瓜幼苗膜保护系统的影响[J].西北植物学报,2001,21(4):656-661.
- [27] 任安芝,刘爽.植物中的超氧化物歧化酶(SOD)对逆境的反应[J].河南科学,1999,17(S1):47.
- [28] 孔静,裴宗平,杜皎,等.水分胁迫下 AM 真菌对紫花苜蓿生长及抗旱性的影响[J].北方园艺,2014(9):179-182.
- [29] 胡桂馨,王代军,刘荣堂.干旱胁迫下内生真菌对高羊茅保护酶活性的影响[J].草原与草坪,2001(1):28-31.
- [30] 梁倩倩,李敏,刘润进,等.全球变化下菌根真菌的作用及其作用机制[J].生态学报,2001,34(21):6039-6048.
- [31] 谢亚军,王兵,梁新华,等.干旱胁迫对甘草幼苗活性氧代谢及保护酶活性的影响[J].农业科学学报,2009,29(4):19-22.
- [32] 刘盛林,贺学礼.水分胁迫下 AM 真菌对甘草生长的影响[J].核农学报,2009,23(4):692-696.
- [33] 张中峰,张金池,黄玉清,等.接种丛枝菌根真菌对青冈栎幼苗生长和光合作用的影响[J].广西植物,2013,33(3):319-323.

Effects of Different Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth and Protective Enzyme Activity of *Glycyrrhiza uralensis*

ZOU Yuandong, GAO Qiong, BI Hongyan, FAN Jihong

(Department of Horticulture, Beijing Vocational College of Agriculture, Beijing 102442)

Abstract: Taking seedlings of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. as experiment materials, the effects of five AM fungi (*Acaulospora mellea*, *Glomus mosseae*, *Glomus versiforme*, *Glomus aggregatum*, *Glomus etunicatum*) on the growth and protective enzyme activities were studied. The results indicated that the plant height, basal diameter, main root length, fresh weight of over ground part, fresh weight of underground part, dry weight of over ground part, dry weight of underground part and control (non-inoculated plant) were significantly increased. The growth index of the inoculated plants was significantly higher than that of the control ($P < 0.05$). The activities of superoxide dismutase(SOD) and peroxidase(POD) increased first and then decreased, and the activity of catalase (CAT) showed a rising trend. The effects of different inoculants on plant growth were significantly different. The results showed that *Glomus etunicatum*, *Glomus mosseae*, *Glomus aggregatum* had a significant effect on the growth of *G. uralensis*, and were superior to other fungi in resisting the adverse environment.

Keywords: *Glycyrrhiza uralensis*; arbuscular mycorrhizal fungi; growth index; protective enzyme