

不同丛枝菌根真菌对番茄酶活性及光合作用的影响

贺忠群¹, 贺超兴², 任志雨³, 李焕秀¹

(1. 四川农业大学 林学院园艺学院, 四川 雅安 625014; 2. 中国农业科学院 蔬菜花卉研究所, 北京 100084; 3. 天津农学院 园艺系, 天津 300384)

摘要: 采用盆栽试验研究了不同丛枝菌根(AM)真菌对番茄酶活性及光合作用的影响。结果表明, 6 种不同 AM 真菌(*Glomus versiforme*, *Glomus mosseae*-2, *Glomus intraradices*, *Glomus diuphauam*, *Glomus mosseae*, *Glomus etunicatum*) 侵染番茄后, 与对照相比番茄叶片 POD、SOD、PAL、PPO 活性显著的增加, MDA 含量显著下降, 其中接种 *G.v* 的诱导作用最大; *G.v* 对番茄的菌根侵染率、菌根依赖性最大, 分别是 52.7% 和 75%, 其提高番茄光合的效果最为显著。

关键词: AM 真菌; 番茄; 酶活性; 光合作用

中图分类号: Q 949.32; S 641.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)06-0021-04

丛枝菌根(AM)真菌在陆生植物中具有广泛的侵染性, 大多学者认为侵染植物组织的真菌是病原菌。Dangeard(1900)^[1]认为 AM 真菌是有益“病原菌”, 后来许多研究者已证实了其对很多植物的有益作用, 如接种 *Glomus fasciculatum* 和 *Gigaspora margarita* 促进了洋葱和辣椒的生长^[2]。后来在柑桔^[3]、番茄^[4]、黄瓜^[5]等植物上也发现了丛枝菌根真菌(AMF)促进养分和水分吸收的作用。但 AMF 不总是增加植物的生长^[6], 当寄主植物中磷含量很高时, 削弱了植物的生长^[7]。AMF 侵染植物后, 不管作用如何寄主体内可能发生一系列的生理生化变化, 而酶的变化是基础。有关 AMF 影响番茄酶活性的变化, 国内外鲜见报道, 该试验通过对番茄接种不同 AMF 后一些酶活性的测定, 来深入了解 AM 真菌对番茄的作用, 对研究菌根番茄的抗性生理及 AMF 在番茄生产中的应用具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试植物 番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 为中国农业科学院蔬菜花卉研究所选育的中杂 9 号, 种子用 70% 酒精浸 5 min 后用蒸馏水冲洗, 28℃ 催芽。

1.1.2 供试菌剂 6 种供试菌种分别为 *Glomus diuphauam* (简称为 *G.d*), *Glomus mosseae* (BEG168 简称为 B168), *Glomus intraradices* (BEG141 简称为 B141), *Glo-*

mus etunicatum (BEG168 简称为 B167), *Glomus versiforme* (简称为 *G.v*) (由中国农业大学资源环境学院提供), *Glomus mosseae*-2 (简称为 *G.m*) (由匈牙利科学院土壤科学与农业化学研究所提供)。

1.1.3 供试土壤 采用中国农业科学院蔬菜所有机土, 其基本理化性状为: pH 值为 7.26, 有机质 11%, 速效磷 150 mg/kg, 速效氮 451 mg/kg, 速效钾 518 mg/kg, 土壤过 1 mm 筛盆钵用 70% 酒精擦后晾干备用, 基质于烘箱中 160℃ 2 h, 自然冷却后继续烘 2 h。

1.2 方法

试验在中国农业科学院蔬菜花卉研究所试验温室进行, 设 6 个接种处理和 1 个不接种对照。盆钵用 70% 酒精擦后晾干, 每盆装有机土 175 g, 每盆播种 3 粒, 接种处理播种同时分别接种以上 6 种菌剂 8 g, 未接种处理(对照 CK)每盆加等量灭菌接种物和 8 mL 无灭菌接种物水滤液, 以保证微生物区系一致。出苗后每盆间苗后留 2 株。每个处理重复 10 次。

2005 年 4 月 20 日将催芽的番茄播种并同时接种菌剂, 在接种后 30、45、60 d 时, 分别对番茄叶片光合速率进行测定; 接种 45 d 后取叶片样用于测定超氧化物歧化酶(SOD), 过氧化氢酶(CAT), 多酚氧化酶(PPO), 过氧化物酶(POD), 苯丙氨酸解氨酶(PAL), 叶片色素含量等生理指标。番茄植株光合速率采用 LI-6400 光合测定仪测定, 菌根侵染率是将番茄根系取样, 将 30 个根段采用苯胺蓝(Aniline blue)染色后, 镜检后通过频率标准法计算^[8]。菌根依存度按下式计算: 菌根依存度(%) = (接种处理干重 - 不接种处理干重) / 接种干重 × 100^[9]。植株生长 65 d 时收获测植株干重, 同时测定菌根侵染率。每个处理所测数据均重复 3 次。所有数据用 SAS 数据处理软件进行处理, 差异显著性采用 Duncan's 新复极差法测验分析。

第一作者简介: 贺忠群(1971-), 女, 重庆人, 博士, 讲师, 主要从事蔬菜生理生态及根际微生物的研究。E-mail: hzqun328@163.com.

通讯作者: 贺超兴。E-mail: ivf_sszp@mail.caas.net.cn.

基金项目: 天津市自然科学基金资助项目(07JCZDJC04000); 科技部中匈合作资助项目(CHIV-31/2004)。

收稿日期: 2008-02-12

SOD、POD 活性测定: 采用 Giannopolitis 和 Ries (1997)^[10], 李合生等 (2002)^[11], 刘永军等 (2000)^[12] 的方法合并改进。SOD 活性测定在 560 nm 下测定光密度值, 以抑制 NBT 光化还原的 50% 的酶量为 1 个酶活性单位; POD 活性测定以每分钟 OD 470 变化 0.1 为一个酶活单位 U, 用 $U \cdot g^{-1}FW \cdot min^{-1}$ 表示酶活性。

CAT 活性测定: 参照 Klapheck 等 (1990)^[13] 方法, 以 240 nm 处光密度值改变 0.01 为一个酶活性单位表示。

苯丙氨酸解氨酶 (PAL), 多酚氧化酶 (PPO)。参照 Koike M 的方法^[14], 分别随机取供试材料茎 1 g, 加 PVP 0.1 g, 5 mmol 巯基乙醇硼酸缓冲液 4 mL, 研磨至匀浆, 离心 (10 000 r/min, 15 min, 4℃), 上清液备用测定 PAL 和 PPO。

PAL 测定: 酶促反应加底物 0.02 mol 苯丙氨酸 pH 8.8 硼酸缓冲液 1 mL, 30℃ 保温 30 min, 对照以 1 mL 蒸馏水代替底物, 290 nm 比色, 以每小时在 290 nm 处吸收变化 0.01 所需酶量为一单位, 相当于每毫升反应液中形成 1 μg 肉桂酸。

PPO 取 50 μL 测定酶粗提液与 2.95 mL 含 0.02 mol 邻苯二酚的磷酸缓冲液 ($0.1 mol \cdot L^{-1}$, pH 6.8) 混合, 30℃ 水浴 2 min 后记录 398 nm 处的 OD 值, 以不加酶液加

相同体积的提取缓冲液为空白对照, 以每分钟 OD 值变化 0.01 为一个酶活单位 U, 用 $U \cdot g^{-1}FW$ 表示酶活性。

MDA 含量测定: 采用硫代巴比妥酸法^[11]。叶绿素含量: 丙酮浸提法^[11]。

2 结果与分析

2.1 AMF 对番茄叶片 SOD、POD、CAT、MDA 的影响

由表 1 可见, 番茄接种不同 AMF 后, SOD、POD、CAT 活性和 MDA 含量都发生了变化。与对照相比接种不同 AMF 均能显著诱导 SOD、POD 活性的增加, CAT 酶活性虽都比对照有所增加但 B141、B167、B168 与对照相比没有显著性差异; MDA 变化与以上 3 种酶变化趋势相反, 与对照相比, 各处理均显著低于对照, 接种 G.v 后叶片 MDA 含量最低, 比对照低 57.3%。SOD、POD、CAT 都是植物氧自由基清除系统的重要酶, 在受到生物及非生物因素的胁迫时, 对植物具有重要的保护作用。说明 AMF 侵染番茄后, 可能处于植物自身的保护, POD、SOD、CAT 升高, MDA 含量体现了植物中过氧化产物的多少, 接种 AMF 后 MDA 含量减少, 也说明了以上酶对番茄作用的结果。

2.2 不同 AMF 对番茄叶片 PAL、PPO 活性的影响

AMF 处理	SOD/ $U \cdot g^{-1}FW \cdot h^{-1}$	POD/OD470 $U \cdot g^{-1}FW \cdot min^{-1}$	CAT/ $U \cdot g^{-1}FW \cdot min^{-1}$	MDA/ $mmol \cdot g^{-1}FW$
B141	165.173 c	2.021 d	27.878 bc	6.335 c
B167	147.991 e	0.814 f	27.523 bc	7.314 b
B168	154.642 d	1.205 e	27.083 bc	6.414 c
G.d	186.236 b	6.421 c	29.284 a	5.548 d
G.v	192.887 a	10.811 a	29.963 a	4.059 e
G.m	187.344 b	10.038 b	28.154 b	4.075 e
CK	129.146 f	0.419 g	27.202 c	9.539 a

由图 1 可见, 不同 AMF 侵染番茄后 PAL 和 PPO 比对照都有显著性增高, PAL 变化各处理间都有显著性

差异, PPO 变化 B141 和 G.d 间没显著变化外与其它处理均有显著差异, 这 2 种酶活性都在 G.v 最高。

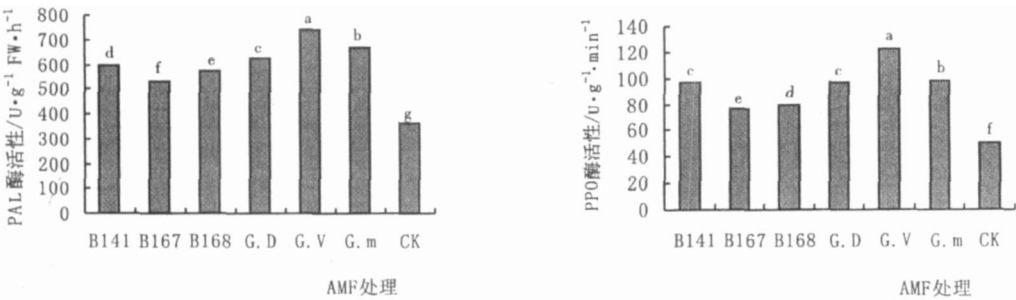


图 1 不同 AMF 对番茄叶片 PAL、PPO 活性的影响

2.3 不同 AMF 对番茄叶片叶绿素含量的影响

番茄接种 45 d 时, 不同 AMF 处理各色素含量的变化规律不尽相同 (表 2)。叶绿素 b (Chlb) 和类胡萝卜素

(Car) 在各处理间有显著差异。与 CK 相比, 不同 AMF 侵染番茄后叶绿素 a 含量均显著大于对照的, 表现为 G.m、G.v > G.d、B141、B168、B167 > CK, 并列的各处理

间无明显差异。接菌株中其它色素含量高于或低于CK, 如叶绿素b除G.v、G.m高于对照外其它处理均小于对照。类胡萝卜素是除B168>CK外其它AMF处理均小于CK, 因此, AMF对番茄叶绿素a的提高作用较大, 对叶绿素b, 类胡萝卜素依AMF种类不同而有明显差异。从总叶绿素来看, G.v>G.m, G.d>B141、B168>B167、CK, 说明接种AMF后, 除B167外, 其它菌种都明显提高了番茄的总叶绿素含量。

表 2 不同 AMF 对番茄叶片色素含量的影响 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

AMF 处理	叶绿素 a	叶绿素 b	类胡萝卜素	总叶绿素
CK	17.348 d	5.017 e	4.969 b	22.365 e
G. m	20.474 ab	5.349 b	4.573 f	25.823 b
G. d	19.908 bc	4.871 d	4.684 d	24.779 bc
B167	18.798 c	4.508 g	4.643 e	23.306 de
B141	19.416 bc	4.599 f	4.932 c	24.015 cd
G. v	21.209 a	6.037 a	4.058 g	27.246 a
B168	19.354 bc	4.795 e	5.264 a	24.149 cd

注: 邓肯氏新复极差测验, 同列不同字母标记的数值在 $P<0.05$ 差异显著。

2.4 不同 AMF 对番茄叶片光合作用的影响

整体上来看, 随着番茄生长, 番茄叶片净光合速率呈下降趋势, 不同菌种处理后的净光合速率的变化幅度不同(图 2)。菌根侵染初期即 30 d(5 月 20 日)时, 经 Duncan's 多重比较, 接种株的光合速率均明显小于对照株, 即CK>B141>G.d>G.v>B168>G.m>B167。菌根侵染中期 45 d(6 月 5 日)时 G.v、B141、G.m 净光合速率较高。60 d(6 月 20 日)时, 净光合速率是 G.v、G.m、B141 较高。因此, 综合来看, 以接种 G.v 的番茄叶片光合效率最高。

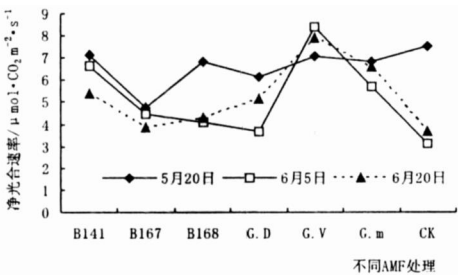


图2 不同AMF 侵染对番茄叶片净光合速率的影响

2.5 不同 AMF 侵染对番茄菌根侵染率的影响

从表 3 可见, 不同 AMF 接种番茄 65 d 的菌根侵染率有显著差异, G.v>G.m>B141>G.d>B168>B167, 因此, 不同 AMF 对番茄的选择差异性较大。菌根依赖性(MD)是指植物依赖菌根菌使自身生长量增加的百分率, 它反应植物与 AMF 互利关系的指标, 表 3 表现出番茄对不同 AMF 不同程度的依赖性, 对 G.v 的依赖性最大, 达到了 75%, 对 B167 的依赖性最小, 只有 14.7%。

表 3 不同 AMF 侵染对番茄菌根侵染率的影响

AMF 处理	菌根侵染率/ %	菌根依赖性/ %
CK	0 g	
G. m	48 b	65.6 b
G. d	37 d	38.4 d
B167	15.6 f	14.7 f
B141	45.2 e	45.1 e
G. v	52.7 a	75 a
B168	23.3 e	27.2 e

3 结论与讨论

3.1 AMF 侵染与番茄 SOD, POD, CAT 酶活性的关系

对于 AMF 侵染与植物体内酶活性变化的研究报道不多, 未见有关番茄这方面的报道。Wu 等(2005)^[15]在正常水分和水分胁迫下对接种 *Glomus versiforme* 的柑桔研究表明, 菌根化柑桔比非菌根化植株根部具有较高的 SOD、CAT、APX, 并具有较低的 O₂、H₂O₂、MDA、AMF 有助于提高柑桔的抗旱性; Hare 等(2005)^[16]研究接种 AMF 的组培葡萄时发现, 接种株比未接种株叶片 POD、NR 活性增强, 在组培苗练苗过程中具有重要作用。试验的研究结果 POD、CAT 活性增加, MDA 含量减少与前人研究相同, 但试验中一些 AMF 诱导 CAT 活性的作用差异不大, 说明不同 AMF 对同一寄主植物不同酶活性的诱导反应并不一致。AMF 对植物的作用研究较多, 但国内外多趋于营养吸收方面的研究, 为了更全面的阐明 AMF 对番茄生长及抗逆方面的作用, 并有效的利用 AMF 于番茄生产, 还需要加强菌根化番茄生理的研究。

3.2 菌根侵染率与 PAL、PPO 的关系

植物本身拥有一套复杂的抵御病原物进攻的防御机制, PAL 和 PPO 就是与植物抗病有关的两种酶^[17]。许多生物、非生物因素都可诱导 PPO 活性, 如机械损伤、细菌真菌感染、信号分子(如系统素、茉莉酸甲酯、水杨酸、乙烯、cAMP)处理等^[18]。寄主植物受各种病原菌感染后, 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性普遍升高, 致病菌对活性升高的刺激大于非致病菌。图 1 的结果显示, 不同的 AMF 对番茄叶片 PAL、PPO 具有显著的影响, 说明番茄对不同 AM 真菌的反应不同, 通过不同 AM 真菌的菌根侵染率与 PAL、PPO 酶活性的相关分析发现, 菌根侵染率与 PAL、PPO 酶活性都呈极显著正相关, 回归方程分别为: $y=5.903x+399.24, r=0.9414^{**}$; $y=1.1052x+53.439, r=0.9519^{**}$ 。说明侵染率大的番茄叶片 PAL、PPO 酶活性变化越大, G.v 对番茄 PAL、PPO 活性的诱导作用最大。

3.3 AMF 侵染与植物光合变化的关系

结果表明, 不同 AMF 不同程度上提高了番茄总叶绿素含量, 叶绿素和捕获光能和传递光能的作用紧密相关, 因此也相应增加了番茄叶片的光合能力, 但光合能

力的增加不是从 AM 真菌一开始侵染就起作用(图 2), 而是侵染一定阶段以后才能促进番茄的光合作用, 这可能因为 AMF 是活体营养型真菌, 在侵染初期 AM 真菌只能从宿主植物得到其生长发育所需的碳水化合物等营养物质, 从而抑制了宿主植物的生长。当 AMF 在宿主根系定植后, 根外菌丝大量生长, 就起到帮助植物水分、养分吸收的功能, 也就增强了地上部叶片的光合功能。但总的来说, G.v 用于生产具有较大的提高番茄光合作用的潜能。

参考文献

- [1] Dangeard P A. Le Rhizophagus populinus[J]. Botaniste 1900(7): 285-287.
- [2] Hirrel M C, Gerdemann J W. Improved growth of onion and dell pepper in saline soils by two vesicular arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Soil Sci Soc Amer J, 1980, 44: 654-655.
- [3] Hartmond U, Schaesberg N V, Graham J H. Salinity and flooding stress effect on mycorrhizal and non-mycorrhizal citrus root stock seedlings[J]. Plant Soil 1987, 104: 37-43.
- [4] Copeman R H, Martin C A, Stutz J C. Tomato growth in response to salinity and mycorrhizal fungi from saline or non-saline soil[J]. HortScience 1996, 31: 341-344.
- [5] Rosendahl C N, Rosendahl I S. Influence of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus spp.*) onion response of cucumber (*cucumis sativus*) to salt stress[J]. Environ Exp Bot, 1991, 31: 313-318.
- [6] Janos D P. Mycorrhizal influence tropical succession Biotropica[J]. 1980, 12(Suppl): 56-64.
- [7] Peng S, Eissenstat D M, Graham J H, Williams K, Hodge N C. Growth depression in mycorrhizal citrus at high phosphorus supply[J]. Plant Physiol 1993, 101: 1063-1071.

- [8] Kormanik P P, McGraw A C. Quantification of VA mycorrhizae in plant roots[C]// In: Methods and principles of mycorrhizal research. Shenk N C (ed.). American Phytopathological Society, St Paul, Minn, 1982: 37-45.
- [9] Takacs T, Voros I. Effect of metal non-adapted arbuscular mycorrhizal fungi on Cd, Ni and Zn uptake by ryegrass[J]. Acta Agronomica Hungarica 2003, 51(3): 347-354.
- [10] Giannopolitis C N, Ries S. Superoxide dismutases I. Occurrence in higher plants[J]. Plant Physiol 1997, 59(2): 309-314.
- [11] 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, 2002.
- [12] 刘永军, 郭守华, 杨晓玲. 植物生理生化实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [13] Klapheck S, Zimmer I, Coose H. Scavenging of hydrogen peroxide in the endospore of *Ricinus communis* by ascorbate peroxidase[J]. Plant Cell Physiol 1990(11): 1005-1013.
- [14] Koike M, Nanbu K. Phenylalanine ammonia-lyase activity in Alfalfa suspension cultures treated with conidia and elicitors of *Verticillium albo-atrum* (abstract)[J]. Biologia plantarum, 1997, 39: 349.
- [15] Wu Q S, Xia R X. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions[J]. Journal of Plant Physiology, 2005(4): 1-15.
- [16] Hare Krishna Singh S K, Shama R R, Khawale R N, Minakshi Grover, Patel V B. Biochemical changes in micropropagated grape (*Vitis vinifera* L) plantlets due to arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation during ex vitro acclimatization[J]. Scientia Horticulture, 2005, 106: 554-567.
- [17] 欧阳光察, 薛应龙. 植物苯丙烷类代谢的生理意义及其调控[J]. 植物生理学通讯 1988(3): 9-16.
- [18] Green N E, Hadwiger L A, Graham S O. Phenylalanine ammonia-lyase, tyrosine ammonia-lyase and lignin in wheat inoculated with *Bryopsis graminis* f. sp. *tritici*[J]. Phytopathol, 1975, 65: 1071-1074.

Effect of Different AM Fungi on Enzymes and Photosynthesis of Tomato

HE Zhong-qun¹, HE Chao-xing², REN Zhi-yu³, LI Huan-xiu¹

(1. College of Forestry and Horticulture, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China; 2. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100081, China; 3. Department of Horticulture, Tianjin Agricultural College, Tianjin 300384, China)

Abstract: Effect of different AM fungi on enzymes and Photosynthesis of tomato. The results showed that POD, SOD, PAL, PPO activity in leaves of tomato significantly increased and MDA significantly decreased after inoculated by different six kinds of AM fungi (*Glomus versiforme*, *Glomus mosseae*-2, *Glomus intraradices*, *Glomus diaphanum*, *Glomus mosseae*, *Glomus etunicatum*) and the effect induced by G.v was stronger than other AM fungi. G.v was the best AM fungi which increased photosynthesis obviously, and had the high AMF colonization and AMF dependence, which were 52.7% and 75% separately.

Key words: AM fungi; Tomato; Enzyme activity; Photosynthesis