

AM 真菌对油蒿生长和抗旱性的影响

赵金莉, 贺学礼

(河北大学 生命科学学院, 河北 保定 071002)

摘要: 油蒿是鄂尔多斯高原南部毛乌素沙地的重要固沙植物和荒漠草原优势植物, 本试验系统研究了 AM 真菌对油蒿生长和抗旱性的影响。结果表明: 接种 AM 真菌促进了油蒿生长, 改善了油蒿叶片水分状况, 增强了叶片细胞质膜的稳定性, 使可溶性糖和叶绿素含量增加, 叶片保护系统(可溶性蛋白含量、POD 活性、CAT 活性) 功能增强, 但脯氨酸含量和 SOD 活性降低。

关键词: 油蒿; AM 真菌; 生长; 抗旱性

中图分类号: S432.4 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2007) 05-0184-05

Effects of AM Fungi on the Growth and Drought-resistance of *Artemisia ordosica*

ZHAO Jin-li, HE Xue-li

(College of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, China)

Abstract: *Artemisia ordosica* is important sand-fixing plants and desert-steppe predominant plants in Mu Us of south of Ordos plateau. This test researched the effects of AM fungi on the growth and drought-resistance of *Artemisia ordosica*. The results showed: After inoculating the AM fungi, the growth of *Artemisia ordosica* plant was promoted, moisture conditions of leaves was improved, stability of leaves cell membrane was strengthened, content of soluble sugar and chlorophyll increased, function of leaves protective and defense system(content of soluble protein, activities of POD and CAT) was enhanced, but Pro content and SOD activity decreased. This research provides the theory basis for the application of AM biotechnology in the desert vegetation restoration and ecology reconstruction.

Key words: *Artemisia ordosica*; AM fungi; The growth; Drought-resistance

毛乌素沙地生境的主要特征是干旱少雨、沙源丰富和大风频繁, 这种特定条件进化出我国特有的优良固沙植物—油蒿。在长期的进化过程中, 油蒿形成了独特的形态结构、生理特征和繁殖习性, 能够很好地适应沙地环境。油蒿群落不仅能够防风固沙, 影响沙地生态系统的水分运移与分配, 还能促进土壤的发育, 同时又是重要的放牧场^[1]。但是生长在老固定沙地上的明显不如生长在新固定沙地上的好, 常常表现出衰败的迹象。究其原因, 是沙地固定前土层中原来贮藏有较多的水分, 随着植物的生长和沙地的固定, 这部分水分逐渐被植物消耗掉了, 由此导致土壤含水量下降。当土壤水分的供应不能满足植物需求时, 植物的生长就受到抑制, 生活力随之下降^[2]。因此, 增强油蒿的抗旱性是防止油蒿群落

衰败的有效途径之一。

许多研究表明, AM 真菌能够提高植物的抗性, 并且对植物抗旱性的影响也有一些报道。应用菌根技术增强植物的抗旱性, 关键在于高效菌种的选择。由于 AM 真菌长期以来形成的对当地环境条件的适应能力, 菌根的应用总是优先考虑当地的种质资源。本试验采用毛乌素沙地油蒿根际土著 AM 真菌群落作为菌剂, 盆栽用土取自毛乌素沙地油蒿群落空地, 真实评价 AM 真菌对油蒿的促生和抗旱效应, 为进一步筛选优良 AM 真菌提供依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

1.1.1 土壤 试验用土原位采自陕西榆林珍稀沙

收稿日期: 2007-06-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40471075)

作者简介: 赵金莉(1973-), 女, 河北景县人, 在读博士, 讲师, 主要从事菌根生物工程和土壤生态学研究。

生植物保护基地。其 pH7.86, 碱解氮 10.83 mg/kg, 速效磷 4.32 mg/kg, 速效钾 67.15 mg/kg, 有机质 4.53 g/kg, 田间最大持水量 15.6%。试验用土预先经过高压间歇灭菌处理, 放置 7 d 后使用。

1.1.2 植物培养 油蒿种子(由中国科学院植物研究所植被数量生态学开放研究重点实验室黄振英老师提供)用 10% H₂O₂ 消毒, 盆栽容器为塑料盆, 盆底内径 12.5 cm, 上口内径 17 cm, 盆高 15 cm, 每盆装土 2 kg。于 2006 年 3 月 29 日上午拌灭菌细沙播种, 4 月 1 日下午开始出苗, 苗高 3 cm 时苗一次, 待苗高 8 cm 时定苗, 每盆留健壮植株 3 株。

1.1.3 接种剂 供试菌种为油蒿土著菌根真菌群落(优势菌种为地球囊霉, 常见菌种为黑球囊霉), 接种菌剂为用三叶草和黑麦草扩大繁殖后获得含有孢子、菌丝和侵染根段根际土的等量混合物(每 100 g 土 560 个孢子)。

1.2 试验设计

试验设两种土壤水分状况, 即正常水分(WW, 土壤含水量为土壤最大持水量的 80%)和水分胁迫(WS, 土壤含水量为土壤最大持水量的 60%) 2 个水平, 每个水平设接种丛枝菌根真菌(+AM)和不接种丛枝菌根真菌(-AM) 2 个处理, 共 4 个处理, 每处理重复 4 次, 随机区组排列, 共 16 盆, 每盆定植 3 株油蒿苗。接种处理每盆穴施菌剂 100 g, 对照处理每盆先加入等量灭菌菌剂, 然后浇入 100 mL 菌剂滤液, 以保持微生物区系的一致性。

为了保证幼苗的成活, 生长前期进行正常水分管理, 通过称重法使每个处理的土壤相对含水量在 80%。待株高 10 cm 左右时(6 月 10 日)开始进行干旱胁迫, 用称重法使干旱胁迫处理的土壤相对含水量维持在 60%, 连续胁迫 80 d。9 月 20 日上午选取

叶位一致的叶片测定可溶性糖含量、可溶性蛋白含量、叶绿素含量、丙二醛(MDA)、脯氨酸含量及保护酶系统指标(SOD 活性、CAT 活性、POD 活性)和叶片细胞膜相对透性。10 月 10 日收获植株, 收获后测定植物生长量, 并剪取长 1 cm 左右的根段测定侵染率。

1.3 测定方法

菌根侵染率用 Phillips 等^[3]的方法测定; 叶绿素含量按 Arnon^[4]的方法测定; 叶片可溶性糖含量用蒽酮比色法^[5]; 脯氨酸含量按文献^[6]的方法测定; POD 活性测定采用愈创木酚法^[5]; SOD 活性测定采用氮蓝四唑(NBT)法^[5]; 可溶性蛋白质含量用考马斯亮蓝 G-250 染色法^[5]; CAT 活性采用紫外吸收法; 丙二醛(MDA)含量按 Dhindsa^[7]方法测定; 细胞膜透性用电导仪法测定^[8]; 叶片相对含水量(W_{rw})和水分饱和亏(WSD)按沈宗英法测定^[9]; 自由水和束缚水含量应用马林契克法测定^[10]。

1.4 数据处理

采用 SPSS 13.0 软件 ANOVA 过程进行处理间的差异显著性测验。

2 结果与分析

2.1 丛枝菌根真菌的侵染

由表 1 可见, 接种丛枝菌根真菌极显著增加油蒿菌根侵染率。接种处理的油蒿无论在正常水分还是在水分胁迫条件下, 都有较高的侵染, 达 80% 以上; 不接种处理的油蒿菌根侵染率很低, 不超过 5%。可见水分对丛枝菌根的发育影响不大。同时也说明油蒿根际土著 AM 真菌与油蒿根系具有较高的亲和性, 能形成良好的菌根共生体。

表1 不同处理下油蒿的菌根侵染率和植物生长量

Tab.1 Arbuscular mycorrhizal colonization rate and the growth of <i>Artemisia ordosica</i> under different treatments								
处 理 Treatment		侵染率/% Infection rate	植物鲜质量/(g/ plant) Plant fresh weight		植物干质量/(g/ plant) Plant dry weight		茎粗/ cm Stem	分枝数/ 个 Branch number
			地上部 Shoot	地下部 Root	地上部 Shoot	地下部 Root		
WW	+ AM	86.68A	33.08 a	6.58 a	8.27a	1.88 a	0.61a	19.89a
	- AM	4.83B	21.92c	3.26c	5.48c	0.93c	0.54a	17.11b
WS	+ AM	83.83A	29.16 b	4.38b	7.29b	1.25b	0.57a	15.00c
	- AM	4.67 B	20.20c	2.63c	5.05c	0.75c	0.48a	13.84c

注: 表中不同大小写字母分别表示在 P ≤ 0.01 或 P ≤ 0.05 水平上差异显著, 下同
Note: The small letters show significant difference at 5% level, and the capital letters show significant difference at 1% level, the same as below

2.2 不同处理对油蒿生长量的影响

由表 1 可见, 水分胁迫显著地抑制油蒿苗地上部鲜质量、地下部鲜质量和分枝数, 对油蒿苗茎粗的影响不显著; 在同一水分条件下, 接种 AM 真菌均显著提高油蒿苗的分枝数、地上部鲜质量和干质量、地

下部鲜质量和干质量; 而对油蒿的茎粗无显著效应。

2.3 不同处理对油蒿叶片水分状况的影响

由表 2 可知, 水分条件显著地影响油蒿叶片水分状况, 在水分胁迫下油蒿叶片的相对含水量和束缚水/自由水显著升高, 水分饱和亏显著下降。同一

水分条件下,接种 AM 真菌提高了油蒿叶片相对含水量和束缚水/自由水,降低了水分饱和亏,但差异未达显著水平。

表 2 不同处理下油蒿叶片水分状况的影响

Tab. 2 The moisture condition of *Artemisia ordosica* leaves under different treatments

处 理	相对含水量	水分饱和亏	束缚水/自由水
Treatment	RWC/ %	WSD/ %	Wb/Wf
WW + AM	73.28a	21.34a	0.33a
- AM	72.93a	21.47a	0.26a
WS + AM	80.98b	16.18b	0.55b
- AM	79.67b	17.43b	0.42b

2.4 不同处理对油蒿叶片质膜透性的影响

试验结果表明(表 3),在水分胁迫条件下油蒿叶片相对电导率和丙二醛含量均升高。在同一水分条件下,接种 AM 真菌显著降低了油蒿叶片相对电导率和丙二醛含量。这表明,接种 AM 真菌显著增强了油蒿叶片细胞质膜的稳定性,从而提高油蒿的抗旱性。

表 3 不同处理对油蒿叶片质膜透性的影响

Tab. 3 Effects of different treatments on the plasma membrane permeability conductance in *Artemisia ordosica* leaves

处 理	相对电导率/ %	丙二醛含量/ (mmol/ g)
Treatment	Relative conductance	Content of MDA
WW + AM	40.56a	4.63±0.54c
- AM	49.84b	5.96±0.41b
WS + AM	46.53b	5.65±0.35bc
- AM	54.79c	7.22±0.62a

2.5 不同处理对油蒿叶片叶绿素含量的影响

由表 4 可看出,水分条件对油蒿叶片叶绿素含量无显著影响。同一水分条件下,接种 AM 真菌显著增加油蒿叶片叶绿素 a 含量,而叶绿素 b 含量都表现出显著的负增长效应;故叶绿素 a/b 值亦显著增加。这表明接种 AM 真菌增加了油蒿叶片叶绿素 a 和叶绿素 b 量值的差距。

表 6 不同处理对叶片保护系统的影响

Tab. 6 Effects of different treatments on protective system in *Artemisia ordosica* leaves

处 理	POD	SOD	CAT	可溶性蛋白含量/ (mg/ g)
Treatment	/ (U/ g)	/ (U/ (min• g))	/ (U/ (min• g))	Content of soluble protein
WW + AM	295.01 ±10.90a	15.77 ±1.01a	5.72 ±0.36a	2.28 ±0.08a
- AM	327.46 ±15.86a	15.74 ±1.47a	2.14 ±0.13b	2.13 ±0.11a
WS + AM	193.95 ±5.19b	22.67 ±1.92b	8.65 ±0.48a	1.91 ±0.06ab
- AM	286.43 ±16.09a	14.67 ±0.91a	6.38 ±0.29a	1.79 ±0.10b

3 讨论

3.1 AM 真菌的侵染与油蒿的生长

在正常水分或水分胁迫条件下接种 AM 真菌的油蒿菌根侵染率极显著高于同水分未接种的植株,水分没有显著影响丛枝菌根的侵染。有相反报道认

表 4 不同处理对油蒿叶片叶绿素含量的影响

Tab. 4 Effects of different treatments on content of chl in *Artemisia ordosica* leaves

处 理	叶绿素含量/ (mg/ g) Content of chl			叶绿素 a/ b
Treatment	叶绿素 a Chl a	叶绿素 b Chl b	叶绿素总量 Total chl	Chl a/ b
WW + AM	0.834a	0.305a	1.13 ±0.078a	2.73a
- AM	0.596b	0.497b	1.09 ±0.064a	1.20b
WS + AM	0.817a	0.322a	1.12 ±0.078a	2.54a
- AM	0.657b	0.381a	1.02 ±0.046a	1.72b

2.6 不同处理对油蒿叶片渗透调节物质含量的影响

由表 5 可知,在水分胁迫条件下油蒿叶片可溶性糖含量降低,脯氨酸含量增加。同一水分条件下,接种 AM 真菌提高了油蒿叶片可溶性糖含量,并在正常水分下差异达显著水平;而脯氨酸含量在接种 AM 真菌处理下降低,差异达显著水平。

表 5 不同处理下油蒿叶片渗透调节物质含量

Tab. 5 The osmoregulation matter in *Artemisia ordosica* leaves under different treatments

处 理	可溶性糖含量/ %	脯氨酸含量/ (μg/ g)
Treatment	Content of soluble suger	Content of proline
WW + AM	0.62±0.022b	33.28±2.42b
- AM	0.47±0.031a	42.60±4.68a
WS + AM	0.46±0.033a	34.86±1.51b
- AM	0.38±0.041a	48.03±4.16a

2.7 不同处理对油蒿叶片保护系统的影响

在逆境条件下植物自身的保护系统会自发进行防御反应。由表 6 可看出,在水分胁迫下,油蒿叶片中 SOD 和 CAT 活性增强,POD 活性和可溶性蛋白含量下降。同一水分条件下,接种 AM 真菌提高了 SOD 和 CAT 活性及可溶性蛋白含量,并在正常水分下 CAT 活性达显著差异,在水分胁迫下 SOD 活性达显著差异;而 POD 活性在接种 AM 真菌处理下降低,并在水分胁迫下达显著水平。

为,水分显著影响西瓜菌根的侵染率^[11]。这可能是由于油蒿具备一定的抗旱能力,干扰或掩盖了水分的作用效应。

同一水分条件下,接种 AM 真菌显著提高了油蒿的生物量和分枝数,而对茎粗无显著效应。这说明 AM 真菌主要是通过增加油蒿地上部的分枝数,

使其占据更大的空间,充分利用光能制造更多的碳水化合物来实现生物量的增加。

3.2 AM 真菌对油蒿抗旱性的影响

植物的抗旱性与植株的水分状况紧密相关,这是由于植株的水分状况关系到细胞膨压、酶的活性、无机盐的吸收、有机物的分解、合成、转化、运输和新器官的形成。据报道,水分胁迫条件下,植物组织的相对含水量下降幅度小、水分饱和和亏增加幅度小及束缚水/自由水小是耐旱的标志^[12]。本研究表明,接种 AM 真菌能够增加油蒿叶片的相对含水量和束缚水/自由水,降低水分饱和和亏。这说明 AM 真菌可以通过改善油蒿的水分状况来增加其抗旱性。

本试验结果表明,接种 AM 真菌增加了油蒿叶片叶绿素 a 和叶绿素 b 量值的差距,即叶绿素 a 含量较高,而叶绿素 b 含量相对较少。由于叶绿素 a 在红光部分吸收的谱带偏向长光波方面,而叶绿素 b 在蓝紫光吸收带较宽。说明接种 AM 真菌使油蒿能更加完全地利用红光,充分体现油蒿适应干旱荒漠环境中强光照的特性。另外,在光合作用的原初反应阶段,叶绿体类囊体上少数特殊状态具有光化学活性的叶绿素 a 起着光能“捕捉器”和光能“转换器”的作用,而大部分叶绿素 a 和全部叶绿素 b、胡萝卜素等起着收集光能的作用,并把这部分光能传到具有光化学活性的叶绿素 a 上,完成光合作用的原初反应。由于叶绿素 a 和叶绿素 b 在植物光合作用中所起的作用不同,可以认为接种 AM 真菌使油蒿叶片叶绿素 a/b 的值增高,对植物体有重要的生理、生态学意义,是增强油蒿光合作用以及对环境适应能力的基础。

膜系统常被认为是干旱伤害的最初和关键部位。当植物器官因干旱胁迫遭受伤害时,其脂质会发生过氧化作用而产生丙二醛,丙二醛会伤害细胞质膜,从而造成细胞内的物质(尤其是电解质)外渗引起组织浸泡液的电导率增加,所以相对电导率和丙二醛含量是检测植物膜受伤害的重要指标。本试验结果表明,在水分胁迫下,接种 AM 真菌显著降低了油蒿叶片的相对电导率和丙二醛含量。说明接种 AM 真菌能够增强油蒿叶片细胞膜的稳定性,从而提高油蒿的抗旱性。

在干旱胁迫条件下,植物体为缓解干旱胁迫的影响会诱导或加速多种生理反应,如脯氨酸、可溶性糖和有机酸等渗透调节物质的积累。这些物质的积累,一方面,可以通过进行渗透调节来增加植株的保水能力,稳定细胞结构,防止细胞脱水;另一方面,可以与脂类、蛋白质结合,阻止膜解离、蛋白质复合体

解聚或酶失活,从而保护亚细胞结构。本研究表明,在水分胁迫下,接种 AM 真菌增加了油蒿叶片可溶性糖含量,但脯氨酸含量显著降低。这与鹿金颖等^[13]在酸枣实生苗中的结果相一致。在土壤干旱条件下,植物通过合成大量的脯氨酸来增强植株的渗透调节作用,以保护各种抗氧化酶的活性。因此,脯氨酸含量的多少可以反映植物遭受干旱的强弱。说明接种 AM 真菌的植株受到水分胁迫的强度较未接种植株的要轻,也可以说 AM 真菌改善了植株水分代谢,有效地减轻油蒿受胁迫的程度。

正常情况下,植物体内活性氧($O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 、 $\cdot OH$ 及 1O_2)产生和清除处于平衡状态,不会导致细胞伤害^[14]。在水分胁迫下,植物体内自由基的产生和清除平衡会受到破坏,植物会动员保护系统保护细胞免遭氧化伤害。保护系统分酶促防御系统和非酶促防御系统。从非酶促防御系统分析,在水分胁迫下,接种 AM 真菌增加了可溶性蛋白含量,说明接种 AM 真菌可减少植株体内 RNA 降解酶,增强非酶促防御系统能力,并且可溶性蛋白是强亲水性胶体物质,其含量的增加可增强植物细胞的保水能力。从酶促防御系统分析,在水分胁迫条件下,接种 AM 真菌显著提高了油蒿叶片 SOD 活性和 CAT 活性。SOD 是植物体内抵抗各种活性氧积累的主要物质^[15],也是清除超氧阴离子的最有效清除剂^[16]。SOD 活性增加,植物对干旱引起的氧化胁迫的耐性提高,以尽量减少或缓解各类活性物质对细胞的损害。CAT 普遍存在于植物的所有组织中,其作用在于破坏对生物体有毒的过氧化氢,过氧化氢酶的活力与植物的代谢强度及抗逆能力有一定联系。可以认为,AM 真菌提高了油蒿体内过氧化氢酶的活性,增强了植物体的代谢强度,对植物体生长起到促进作用,同时过氧化氢酶活性的提高也增强了油蒿的抗旱能力。但是,本试验结果表明,接种 AM 真菌显著降低了油蒿叶片中 POD 活性。通常,在老化组织中 POD 的活性较强,在幼嫩组织中较弱,因为 POD 能使组织中 C_3 - C_8 化合物转化为木质素,增强组织木质化的程度,因此经常把植物组织中 POD 活性作为其老化的一个生理生化指标。根据本试验对不同处理油蒿叶片 POD 活性测定的结果可以认为,在油蒿生长后期丛枝菌根延缓了叶片的衰老程度,从而增强了油蒿叶片的同化能力,从另一个角度看,丛枝菌根相对延长了油蒿的生长期,有效促进了油蒿对生物量的积累,增强其抗旱性。

由此可见,接种 AM 真菌能显著促进油蒿生长和增强其抗旱性。这为菌根生物技术 in 荒漠植被恢

复和生态重建中的应用提供了依据。

参考文献:

- [1] 杨洪晓,张金屯,吴波.油蒿(*Artemisia ordosica*)对半干旱区沙地生境的适应及其生态作用[J].北京师范大学学报(自然科学版),2004,40(5):684-690.
- [2] 郭柯,董学军,刘志茂.毛乌素沙地沙丘土壤含水量特点—兼论老固定沙地上油蒿衰退原因[J].植物生态学报,2000,24(3):275-279.
- [3] Wang Y Z,Ke Y Q,Pan T G.Effects of different mycorrhizal fungi on physiological metabolism of tobacco seedlings [J]. Chin J Appl Ecol, 2002, 13(1):87-90.
- [4] Wang Z Y.Fruit Tree Physiology of Drought Tolerance[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2000.
- [5] Ruiz-Lozano J M. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress new perspectives for molecular studies [J]. Mycorrhiza, 2003, 13: 309-317.
- [7] Dhindsa R S,Matowe W. Drought tolerance in two mosses: correlated with enzymatic defense against lipid peroxidation [J]. J Exp Bot, 1981, 32: 79-91.
- [6] Li H S. Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.
- [8] 王韶唐. 植物生理学实验指导[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1987: 149-151.
- [9] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- [10] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [11] Kaya C, Higgs D, Kimak K, *et al.* Mycorrhizal colonization improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) grown under well-watered and water-stressed conditions [J]. Plant and Soil, 2003, 253: 287-292.
- [12] Levitt J. Response of Plants to Environmental Stress: Vol II [M]. New York: Academic Press, 1980: 211.
- [13] 鹿金颖,毛永民,申连英,等. VA 菌根真菌对酸枣实生苗抗旱性的影响[M]. 园艺学报, 2003, 30(1): 29-33.
- [14] Jose A H, Maria A. Antioxidant systems and H₂O₂ production in apoplast of pea leaves. Its relation with salt-induced necrotic lesions in minor veins [J]. Plant Physiology, 2001, 127: 817-831.
- [15] W 格鲁依森姆, R L 琼斯. 植物生物化学与分子生物学[M]. 瞿礼嘉, 顾红雅, 等译. 北京: 科学出版社, 2004: 472-489.
- [16] 肖浪涛,王三根. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 126-129.