

构树幼苗对接种丛枝菌根真菌的生长响应*

何跃军^{1,2} 钟章成^{2,3**} 刘济明¹ 刘锦春^{2,3} 宋会兴^{2,3} 金静^{2,3}

(¹ 贵州大学林学院, 贵阳 550025; ² 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400715; ³ 西南大学生命科学学院, 重庆 400715)

摘要 利用石灰岩适生植物构树进行菌根真菌摩西球囊霉(GM)、地表球囊霉(GV)和透光球囊霉(GD)的单独接种(SI)、混合接种(CI)和不接种(N)处理试验,测定了构树幼苗生长3个月后的形态及生长指标。结果表明:接种VA真菌促进了宿主构树的生长,单株地上部分、地下部分生物量和全株生物量等生长指标均较对照组显著提高。4种处理下构树幼苗生物量较对照提高了2.49~8.19倍,其中CI处理生物量最大,而单株叶片数目与对照组没有显著差异。不同接种处理的构树幼苗生长响应不同。在SI处理中,GD对构树幼苗生长效应最大,而CI处理较SI处理对构树幼苗的促进效应更加明显。CI处理中地径、苗高和总叶面积分别是对照组的1.5、2.2和6.0倍。各处理中根冠比最大的为CI(0.446)。说明宿主植物与菌种存在一定的选择性。

关键词 VA真菌 构树 生长响应

文章编号 1001-9332(2007)10-2209-05 中图分类号 Q945.32 文献标识码 A

Growth response of *Broussonetia papyrifera* seedlings to VA mycorrhizal fungi inoculation.

HE Yue-jun^{1,2}, ZHONG Zhang-cheng^{2,3}, LIU Ji-ming¹, LIU Jin-chun^{2,3}, SONG Hui-xing^{2,3}, JIN Jing^{2,3} (¹ College of Forest, Guizhou University, Guiyang 550025, China; ² Key Laboratory of the Three Gorges Reservoir Region's Eco-Environment of Education Ministry, Chongqing 400715, China; ³ College of Life Science, Southwest China Normal University, Chongqing 400715, China). - Chin. J. Appl. Ecol. 2007, 18(10): 2209-2213.

Abstract: In an experiment with single inoculation (SI) and co-inoculation (CI) of three VA mycorrhizal fungi, *i. e.*, *Glomus mosseea* (GM), *Glomus versiforme* (GV) and *Glomus diaphanum* (GD), the growth response of *Broussonetia papyrifera* seedlings in limestone area was studied. The results showed that after 3 months of growth, the aboveground-, underground-, and total biomass were increased significantly by the inoculation, being 2.49-8.19 times as much as the control. Treatment CI had the highest biomass, but the leaf number had little difference with the control. In SI, GD inoculation had the greatest effect; and CI was more effective than SI. The ground diameter, height, and total leaf area in CI were 1.5, 2.2, and 6.0 times as much as those in CK, respectively, and the root/shoot ratio in CI was the highest (0.446). There existed an interactive selection between host plants and VA mycorrhizal fungi.

Key words: VA fungi; *Broussonetia papyrifera*; growth response.

1 引言

菌根研究是当前生态研究的热点。VA真菌是一类能够与大多数植物形成共生关系的真菌。菌根与土壤的交互作用形成菌根际,由真菌、植物和土壤形成微生态系统。由于石灰岩具有土层干旱瘠薄、

水分亏缺的特殊生境,该地区植被在自然演替过程中恢复起来比较困难,但仍有恢复的潜力^[18]。目前,在石灰岩土壤上生长的植物中已发现VA真菌^[10-11],但对该生境下菌根形成及其生态学意义尚缺乏充分认识。干旱地区菌根的作用主要表现为增加植物抗旱性和提高水分的传递速率,VA菌根与宿主植物之间的共生而达到高度平衡的联合体,具有扩大宿主植物根的吸收面积,增加宿主植物对磷及其他养分的吸收,提高宿主植物的抗逆性等作

* 国家自然科学基金资助项目(30370279, 30670334)。

** 通讯作者。E-mail: zzhong@swu.edu.cn

2007-01-04 收稿, 2007-07-22 接受。

用^[5]。石灰岩地区植被恢复除了与树种本身具有根系较发达、叶片具蜡质层等生物学特性和抗干旱耐瘠薄的生态学特性有关外,植物在瘠薄的土壤上生长,是否与根际微生物和真菌对植物侵染后形成的特殊共生关系有关?菌根的形成是否是该地区植物演替恢复的重要对策?要解决以上问题,需要进行石灰岩基质上菌根真菌接种实验。近年来,应用 VA 真菌菌根促进植物生长的研究较多^[2-4,7-9,16-17],但从菌根水平上对石灰岩地区适生种群生态学的研究还未见报道。因此,开展石灰岩地区石漠化基质上适生种群和菌根真菌关系的生态学研究,是石灰岩植被恢复的一条重要途径。

构树(*Broussonetia papyrifera*)是我国南方石灰岩地区广泛分布的适生物种之一,适合生长在海拔 1 400 m 以下、年平均气温 6 °C ~ 22 °C、年均降水量 400 ~ 1 600 mm 的环境中,喜光、耐旱瘠薄,对土壤条件的适应能力强。为此,本研究选取构树进行菌根真菌接种实验,测定其生长指标,以期了解 VA 真菌对植物生长的促进效应,为石灰岩退化生态系统的恢复提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 供试材料

2.1.1 菌种 采用球囊霉属的摩西球囊霉(*Glomus mosseae*,简称 GM,新疆的非根际分离,约 300 个孢子·20 g⁻¹)、地表球囊霉(*G. versiforme*,简称 GV,北京的高粱根际分离,约 1 000 个孢子·20 g⁻¹)和透光球囊霉(*G. diaphanum*,简称 GD,新疆的水稻根际分离,约 900 个孢子·20 g⁻¹)。3 个菌种均购自北京市农林科学院植物营养与资源研究所。

2.1.2 植物种子和土壤 植物种子于 2003 年 8 月采自贵阳花溪石灰岩山上同一植株的构树。土壤基质是 2003 年 11 月取自重庆北碚鸡公山石灰岩山上的石灰土,土壤 pH 为 6.18,有机质含量 26.8 g·kg⁻¹,碱解氮 68.35 mg·kg⁻¹,速效钾 108.41 mg·kg⁻¹,交换性钙 2 326.40 mg·kg⁻¹,全钾 14.62 g·kg⁻¹,全磷 0.46 g·kg⁻¹,全氮 1.34 g·kg⁻¹。构树种子采用 10% 的 H₂O₂ 灭菌 20 min,土壤喷施苯 5% 酚溶液灭菌后在高压灭菌锅里连续灭菌 1 h。将灭菌基质按每盆称取 1.5 kg 装入 190 mm × 150 mm 的塑料花盆内,备用。

2.2 研究方法

2.2.1 接种 分为接种组(M+)和对照组(不接种 VA 菌,M-)2 种处理,各组处理又分成混合接种

(CI)和单独接种(SI)。在接种组处理中,混合接种为等量称取 GM、GV、GD 3 种菌剂共 20 g 均匀混合,平铺于已装盆的灭菌土表面,播入灭菌构树种子 5 个重复;单独接种是以同样的方法称取各菌种 20 g 分别单独接种。在对照组中:混合接种是等量称取 GM、GV、GD 菌剂共 20 g 均匀混合,高压灭菌 20 min 后,加入 200 ml 无菌水浸泡 10 min,过滤,取滤液 10 ml 加于灭菌接种物上,再播入灭菌构树种子;单独接种是称取各菌种 20 g 高压灭菌 20 min 后,加入 200 ml 无菌水浸泡 10 min,过滤,分别取滤液 10 ml 加于接种物上,再播入灭菌构树种子。以上每处理 5 个重复,在培养室进行常规培养。

2.2.2 测定方法 幼苗培养 3 个月后进行构树生长及生理指标的测定。1)生物量测定:将幼苗单株取出,去其根系泥土,洗净,在 105 °C 烘箱中烘干,采用称量法进行测定。根冠比 = 单株地下部分生物量/地上部分生物量。2)菌根侵染率测定:酸性品红染色,然后用感染长度计算法测定菌根侵染率^[6]。3)叶面积测定:使用叶面积仪(MK2 Area Meter System, Delta-T Devices Ltd,英国)测定。

2.3 数据处理

所有数据处理均在 SPSS 11.0 统计软件下完成。采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和 LSD 进行多重比较。

3 结果与分析

3.1 构树幼苗菌根依赖性对 VA 真菌的响应

植物对 VA 菌根真菌的依赖性反映植物与 VA 真菌相互关系的指标^[12],其可表示为:菌根依赖性 = (接种处理干质量 - 不接种处理干质量) / 接种处理干质量 × 100%^[2,12]。

通过生物量测定数据计算的结果表明:GM、GV、GD 和 CI 处理依赖性分别为 60.80、79.16、66.94 和 84.56。在混合接种中,宿主植株的依赖性最高,表明苗木的生长更依赖于菌根真菌。其次为 GV 和 GD。生长量大、依赖性低的 GD 接种处理反映了在菌剂中除目的菌种外,其他杂菌对幼苗生长也有一定影响。说明混合接种较单独接种的菌根真菌促进效应更大。

3.2 构树幼苗菌根侵染率对接种 VA 真菌的响应

由表 1 可以看出,幼苗生长 3 个月后,其混合接种处理的侵染率最高(83.41%),GD 处理最低(68.05%),在未接种处理中,各处理侵染率均为 0。CI 处理与其余各处理侵染率间差异性显著($P <$

表 1 不同接种处理的构树幼苗侵染率

Tab.1 Colonization rate of *B. papyrifera* seedlings under different inoculated disposals (mean \pm SE)

| 处理 Treatment | 侵染率 Colonization rate(%) | |
|-----------------|----------------------------|---------|
| | 接种组 M + | 对照组 M - |
| GM | 76.50 \pm 4.61a | 0 |
| GV | 71.63 \pm 3.30a | 0 |
| GD | 68.05 \pm 5.12a | 0 |
| CI | 83.41 \pm 4.37b | 0 |

不同字母表示差异显著($P < 0.05$) Different letters meant significant difference at 0.05 level. 下同 The same below.

0.05) ,单独接种 3 个菌种处理之间存在一定差异, 但不显著($P > 0.05$) .

3.3 构树幼苗生物量对接种 VA 真菌的响应

构树接种 GM、GV、GD 和 CI 处理后, 构树生物量与对照之间呈显著差异(图 1). 构树幼苗单株地上生物量较 CK 组显著提高, GM、GV、GD 和 CI 接种处理分别是对照的 2.57、6.56、2.74 和 5.20 倍. 其中, 混合接种的幼苗单株地上生物量和地下生物量最大, 为每株 0.616 g 和 0.285 g, 而对照仅为每株 0.118 g 和 0.032 g. 在图 1b 中, GM、GV、GD 和 CI 接种处理分别是对照的 2.49、4.73、4.26 和 8.79 倍. 其中, 混合接种处理中幼苗单株地下生物量最高. 就构树全株生物量而言, 各接种组与非接种组之间差异显著, 接种 VA 菌根菌的构树幼苗生物量大小依次是混合接种 > 单独接种, 单独接种处理中又以 GD > GM > GV(图 2). 这说明接种 VA 真菌能够促进构树幼苗生物量的积累, 同时, 不同 VA 真菌对同一宿主植物生长的促进作用有差异, 侧面说明构树对不同菌种的依赖性不同. 这对菌根化育苗中菌种的筛选具有一定的指导意义.

3.4 构树幼苗根冠比对接种 VA 真菌的响应

由图 2 可以看出, 接种 3 种 VA 菌根真菌后, 构树根冠比在 GM($P = 0.061$) 和 GV($P = 0.113$) 接种组与对照组间差异不显著, 而在 GD 和 CI 条件下其根冠比较 CK 组有显著提高, 表明 GD 较其他 2 种真菌更能够提高植株抗旱性, 而在混合接种条件下, 各目的真菌之间由于对构树苗的协同效应而使幼苗生物量的积累达到最大值. 同时, 在宿主植株的根冠比上, 4 个接种组中根冠比最大的为 CI 处理(0.466), 其次是 GD 处理(0.457); 而在非接种组中, GD 和 CI 处理分别是对照的 2.26 和 2.68 倍, GM 和 GV 处理则较对照低, 但二者差异性不显著. 这表明 GD 对根系生长的促进作用更大, 且混合接种较单独接种处理的效应更明显. 这是否提高了根系的抗旱性还有待于进一步研究.

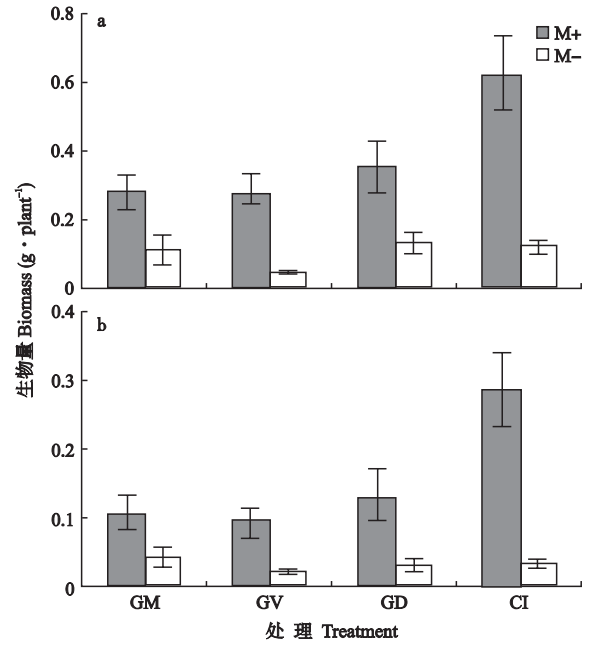


图 1 构树幼苗地上部(a)和地下部(b)生物量对 VA 处理的响应

Fig.1 Responses of above-ground (a) and under-ground (b) biomass to *B. papyrifera* inoculated with different VA fungus (mean \pm SE).

GM : 摩西球囊霉 *Glomus mosseae* ; GV : 地表球囊霉 *G. versiforme* ; GD : 透光球囊霉 *G. diaphanum* ; CI : 混合接种 Co-inoculation. 下同 The same below.

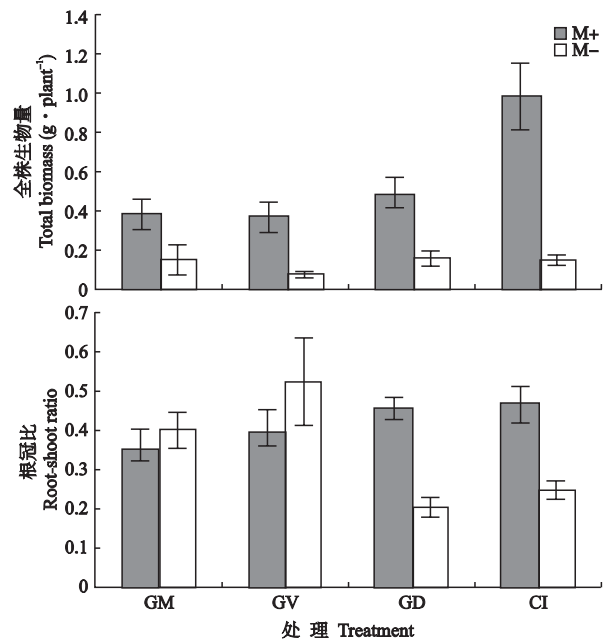


图 2 构树幼苗全株生物量和根冠比对接种 VA 处理的响应

Fig.2 Responses of total biomass and root/shoot ratio to *B. papyrifera* inoculated with different VA fungus (mean \pm SE).

3.5 构树幼苗形态可塑性对接种 VA 真菌的响应

由表 2 可以看出, 与对照相比, 混合接种处理构树幼苗生长 3 个月后, 其形态分化出现了明显差异. 除单株总叶片数没有显著差异外, 其地径、苗高、总

表2 构树幼苗接种处理下的表型特征

Tab. 2 Phenotypic characteristics of *B. papyrifera* seedlings under inoculated treatments (mean \pm SE)

| 菌种类型 Fungus | 处理 Treat- ment | 地径 Ground diameter (cm) | 苗高 Height (cm) | 总叶面积 Total leaf area (cm ²) | 总叶片数 Leaf- amount |
|----------------|----------------------|----------------------------------|----------------------|--|-------------------------|
| GM | M+ | 0.12 \pm 0.05a | 8.65 \pm 1.03a | 39.16 \pm 2.97a | 6.3 \pm 0.1a |
| | M- | 0.10 \pm 0.01b | 3.59 \pm 0.39b | 9.47 \pm 2.31b | 6.1 \pm 0.1a |
| GV | M+ | 0.12 \pm 0.07a | 8.35 \pm 0.76a | 37.45 \pm 3.27a | 6.1 \pm 0.2a |
| | M- | 0.09 \pm 0.06b | 3.28 \pm 0.25b | 8.69 \pm 1.00b | 6.4 \pm 0.1a |
| GD | M+ | 0.14 \pm 0.05a | 9.57 \pm 1.47a | 45.68 \pm 3.62a | 5.9 \pm 0.2a |
| | M- | 0.09 \pm 0.01b | 4.10 \pm 0.39b | 11.21 \pm 1.49b | 6.2 \pm 0.1a |
| CI | M+ | 0.15 \pm 0.02a | 10.35 \pm 1.19a | 65.37 \pm 4.86a | 6.2 \pm 0.1a |
| | M- | 0.10 \pm 0.04b | 4.62 \pm 0.06b | 10.87 \pm 1.85b | 5.8 \pm 0.2a |

叶面积、地上生物量和地下生物量均出现显著差异。其中,混合接种组构树幼苗的地径、苗高和总叶面积最大,分别是对照组的1.5、2.2、6.0、4.2和3.0倍。在单独接种下,地径、苗高和总叶面积分别是对照组的1.6、2.0和4.0倍。表明接种VA真菌能够引起宿主植物幼苗形态构件上的分化,并显著地促进构树幼苗的生长。

4 讨论

Harler等^[6]认为,VA菌根植物的生长是取决于真菌对宿主植物所提供营养物质的增加(促进因素)和真菌本身对碳水化合物的消耗(减弱因素)之间的平衡。本实验另文(待发表)结果显示,菌根化处理提高了构树幼苗对土壤中N、P营养元素的吸收,同时增强了构树幼苗叶绿素a和叶绿素b及总叶绿素的提高。由于营养元素的积累和光合强度的增加,表现出接种处理的构树幼苗较非接种处理增加了生物量,并在形态上产生差异:苗高增加,地径增大,总叶面积增加,地上部分和地下部分干质量增加。与毛永民等^[13]和齐国辉等^[15]的研究结果一致。

在混合接种处理下,各菌种对宿主植株的共同作用表现出较单独接种更大的生物量促进效应。最近研究发现,混合接种VA菌根真菌和2种固氮细菌的苜蓿(*Medicago sativa*)在重量、根瘤数、大量和微量元素的含量等方面较单一接种有显著增加,表现出明显的协同效应^[1]。这从另一方面说明混合接种下菌根真菌可通过协同作用提高对宿主植物资源的利用,从而有利于宿主植物生物量的积累,表现为增加其生物量。可能的原因是各菌种相互调节,从土壤中摄取更多的养分资源供给宿主植株,植株获取养分后使得体内生理代谢活跃,进而提高光合产物,以生物量的形式表现出来。宿主植物把一些光合产

物如糖分或碳水化合物运输于根系供VA菌丝繁殖生长之用。这样就使得菌丝体在土壤中更快的增长,从而为宿主摄取营养供宿主植物生长。混合接种较单独接种具有更强的依赖性,说明接种处理的生物量增加更是菌根真菌促进效应的结果。

参考文献

- [1] Biro B, Koves-Pechy K, Voros I, et al. 2000. Interrelations between *Azospirillum* and *Rhizobium* nitrogen-fixers and arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of alfalfa in sterile, AMF-free or normal soil conditions. *Applied Soil Ecology*, **15**: 159–168
- [2] Feng G (冯固), Bai D-S (白灯莎), Yang M-Q (杨茂秋), et al. 1999. Effects of salinity on VA mycorrhiza formation and of inoculation with VAM fungi on saline-tolerance of plants. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), **10**(1): 79–82 (in Chinese)
- [3] Feng G (冯固), Yang M-Q (杨茂秋), Bai D-S (白灯莎), et al. 1997. Influence of VA mycorrhizal fungi on availability of different phosphates in calcareous soil. *Plant Nutrition and Fertilizer Science* (植物营养与肥料学报), **3**(1): 43–48 (in Chinese)
- [4] Gehring CA. 2003. Growth responses to arbuscular mycorrhiza by rain forest seedlings vary with light intensity and tree species. *Plant Ecology*, **167**: 127–139
- [5] Gong M-Q (弓明钦), Chen Y-L (陈应龙), Zhong C-L (仲崇录). 1997. Mycorrhizal Research and Application. Beijing: China Forestry Press. (in Chinese)
- [6] Harler JL, Smith SE. 1983. Mycorrhizal Symbiosis. New York: Academic Press.
- [7] He X-Y (何兴元), Wu Q-F (吴清凤), Tian C-J (田春杰), et al. 2002. Study on the joint symbiotic association of *Robinia pseudoacacia* and the microbion. *Scientia Silvae Sinicae* (林业科学), **38**(4): 78–83 (in Chinese)
- [8] Huang Y (黄艺), Chen Y-J (陈有键). 2000. Effect of rhizospheric environment of VA mycorrhizal plants on forms of Cu, Zn, Pb and Cd in polluted soil. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), **11**(3): 431–434 (in Chinese)
- [9] Janos DP, Schroeder MS, Schaffer B, et al. 2001. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi enhances growth of *Litchi chinensis* Sonn. trees after propagation by air-layering. *Plant and Soil*, **233**: 85–94
- [10] Lei Z-P (雷增普), Wang C-W (王昌温), Wu B-Y (吴炳云). 1991. The application of biological preparation on afforestation by *P. tabulaeformis* and *P. orientalis*. *Journal of Beijing Forestry University* (北京林业大学学报), **13**(suppl.): 79–87 (in Chinese)
- [11] Li J-P (李建平), Li T (李涛), Zhao Z-W (赵之伟). 2003. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the hot-dry valley of Jinsha River. *Mycosystema* (菌物系统), **22**(4): 604–612 (in Chinese)
- [12] Lin X-G (林先贵), Hao W-Y (郝文英). 1989. Mycorrhizal dependency of various kinds of plants. *Acta*

- Botanica Sinica* (植物学报), **31**(9): 721-725 (in Chinese)
- [13] Mao Y-M (毛永民), Lu J-Y (鹿金颖), Shen L-Y (申连英), et al. 2000. The effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on growth of wild jujube (*Zizyphus spinosus* Hu) seedlings. *Journal of Agricultural University of Hebei* (河北农业大学学报), **23**(2): 44-47 (in Chinese)
- [14] Pan R-Z (潘瑞炽), Dong Y-D (董愚得). 1995. Plant Physiology. Beijing: Higher Education Press: 31-32 (in Chinese)
- [15] Qi G-H (齐国辉), Du R-T (都荣庭), Yang Y-M (杨玉明). 1997. Effects of seedling growth on apple (*Malus pumilavar domestica*) by inoculating VA fungi in field. *Hebei Fruit Tree* (河北果树), **33**(2): 11-12 (in Chinese)
- [16] Yan X-F (阎秀峰), Wang Q (王琴). 2002. Effects of ectomycorrhizal inoculation on the seedling growth of *Quercus liaotungensis*. *Acta Phytoecologica Sinica* (植物生态学报), **26**(6): 701-707 (in Chinese)
- [17] Yan X-F (阎秀峰), Wang Q (王琴). 2004. Effects of co-inoculation with two ectomycorrhizal fungi on *Quercus liaotungensis* seedlings. *Acta Phytoecologica Sinica* (植物生态学报), **28**(1): 17-23 (in Chinese)
- [18] Zhu S-Q (朱守谦), He J-X (何纪星). 2003. A study on microhabitats to Karst forest in Maolan// Zhu S-Q (朱守谦), ed. Ecological Research on Karst Forest (III). Guiyang: Guizhou Science and Technology Press: 38-47 (in Chinese)

作者简介 何跃军,男,1977年生,硕士,讲师.主要从事植物种群生理生态学研究,发表论文12篇. E-mail: hyj1358@163.com

责任编辑 李凤琴

欢迎订阅 2008 年《应用生态学报》

《应用生态学报》(1990年创刊)是由中国科学院主管、中国生态学学会和中国科学院沈阳应用生态研究所联合主办,科学出版社出版的国内外发行的综合性学术刊物.本刊宗旨是坚持理论联系实际的办刊方向,结合科研、教学、生产实际,报道生态科学诸领域在应用基础研究方面具有创新的研究成果,交流基础研究和应用研究的最新信息,促进生态学研究为国民经济建设服务.

本刊专门登载有关应用生态学(主要包括森林生态学、农业生态学、草地生态学、渔业生态学、自然资源生态学、景观生态学、全球变化生态学、城市生态学、产业生态学、生态规划与生态设计、污染生态学、化学生态学、生态工程学、恢复生态学、生物入侵与生物多样性保护生态学、流行病生态学、旅游生态学和生态系统管理等)的综合性论文、创造性研究报告和研究简报等.

本刊读者对象主要是从事生态学、地学、林学、农学和环境科学研究、教学、生产的科技工作者,有关专业的研究生及经济管理和决策部门的工作人员.

《中国科学引文数据库》、《中国科技论文与引文数据库》、《中国生物学文摘》、美国《生物学文摘》(BA)、美国《Medline》、美国《BIOSIS Previews》、美国《BIOTECHNO》、美国《化学文摘》(CA)、英国《生态学文摘》(EA)、日本《科学技术文献速报》(CBST)和俄罗斯《文摘杂志》(PЖ)等十几种权威检索刊物均收录本刊的论文摘要(中英文),并被认定为《中国核心期刊(遴选)数据库》和《中国科学引文数据库》来源期刊.本刊的整体质量与水平已达到新的高度,1992年荣获全国优秀科技期刊三等奖和中国科学院优秀期刊二等奖,1996年荣获中国科学院优秀期刊三等奖,2000年荣获中国科学院优秀期刊二等奖,2001年入选中国期刊方阵双效期刊,2004和2005年入选“百种中国杰出学术期刊”.

本刊为月刊, A4开本, 224页, 每月18日出版, 期定价65.00元, 全国各地邮政局(所)均可订阅, 邮发代号8-98. 错过订期也可直接向本刊编辑部邮购, 个人订阅优惠30%. 地址: 辽宁省沈阳市文化路72号《应用生态学报》编辑部/110016. 电话(024)83970393, E-mail: cjae@iae.ac.cn