

不同磷水平下摩西球囊霉对小麦幼苗生长的影响

曹翠玲¹, 杨建红¹, 范淑君², 李学俊¹

(1. 西北农林科技大学生命科学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学理学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: 在沙培条件下采用双因素正交设计, 单孢子接种、套袋密闭培养方法, 探究了在低磷(1 $\mu\text{mol/L}$)和高磷(400 $\mu\text{mol/L}$)条件下小麦幼苗根系接种球囊霉属的摩西球囊霉孢子后, 对小麦农艺形态、生理指标及干物质累积的影响。结果表明: 在低磷条件下接种摩西球囊霉后, 小麦株高比对照增加 13%, 根系干重增加 26%, 地上部增加 29%, 植株干重增加 34%; 不论高磷还是低磷水平, 接种摩西球囊霉后小麦叶片水势均低于对照水平; 幼苗根系活力分别比对照提高了 196% (1 $\mu\text{mol/L P}$) 和 89% (400 $\mu\text{mol/L P}$), 叶绿素含量升高; 根系和叶片可溶性蛋白含量均高出对照。因此, 小麦和摩西球囊霉真菌能形成较好的共生互惠体系。

关键词: 摩西球囊霉; 单孢子接种; 密闭套袋; 小麦幼苗; 生长

中图分类号: S311 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2011)05-0082-05

丛枝菌根 (Arbuscular mycorrhizal, AM) 是一种最常见的内生菌根, 又称泡囊-丛枝菌根 (Vesicular arbuscular mycorrhizal, VAM), 其在自然界中分布极为广泛, 陆地上 90% 以上的高等植物都能形成丛枝菌根^[1,2]。VA 菌根能增加植物对矿物质营养特别是磷的吸收, 提高光合作用速率, 对养分平衡和水分利用起重要作用, 进而可增强植物抗旱、耐盐碱、抗低温、抗病虫等外部不良环境的能力, 促进植物生长并改善其品质^[3-5]。近年来国内很多学者研究了 VA 菌根对小麦生长发育及生理机制的影响。戴开军^[6]等研究了接种 VA 菌根真菌 *Glomus mosseae* 对小麦幼苗生长发育的影响; 刘建玲等^[7]采用三室根箱研究了 VA 菌根对不同磷效率小麦品种根际磷转化的影响。但是, 他们在接种 VA 菌根时, 都采用的混合接种剂 (含孢子、菌丝及侵染根的根段), 虽然这种接种方法最终也能使供试材料受到侵染, 但单孢接种则更能保证研究的可靠性。同时, 以往所见试验都是开放式培养, 为了难免试验期间被其他真菌孢子感染, 因此本试验还采用了密封式全程培育的方法, 以保证试验的科学可靠性, 以期能正确评价接种摩西球囊霉对小麦的生理及生长影响, 为进一步发展真菌菌肥提供理论依据和实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

本试验于 2009 年 4 月至 2009 年 5 月在西北农林科技大学生命楼实验室进行。供试材料为冬小麦

(*Triticum aestivum*) 小偃 6 号。种子先用 0.5% 高锰酸钾消毒 5 min, 在铺有滤纸的培养皿中常温催芽 2 d。供试菌种为本地广谱菌种球囊霉属中的摩西球囊霉 (*Glomus mosseae*)。试验容器采用上底 × 下底 × 高为 6 cm × 4 cm × 7 cm 的塑料纸杯, 每杯装 400 g 干沙 (过 24 目标准筛的河沙洗净, 置于烘箱中 120℃ 灭菌 48 h)。试验采用双因素正交设计: 因素 1 为磷水平, 设 2 个水平分别是: 1 $\mu\text{mol/L}$ 、400 $\mu\text{mol/L}$, 记为 P1、P400, 因素 2 为 VA 菌接种处理, 设未接种 (CK) 和接种摩西球囊霉 (GM) 2 个处理。共计 4 个处理。每处理重复 10 次。每杯栽种小麦幼苗三株, 采用 Hogland 营养液浇灌。营养液磷水平用 KH_2PO_4 调配。因低磷而引起的营养液 K 的减少, 以 KCl 补充。持续使用营养液, 容易因水分蒸腾而产生盐分累积效应, 对作物产生毒害, 因此在浇灌营养液的 2~3 d 后, 用注射器滴灌一次清水预防基质表面产生“盐霜”。试验过程中沙子水分含量保持在大约 15% 左右。接种处理采用单孢子接种法。整个试验过程中, 用透光性强的丙烯袋 (尺寸长 × 宽 = 40 cm × 14 cm, 丙烯袋一侧中间开 7.5 cm × 6 cm 大小的透气小窗, 用透气网格布封窗) 将整个试验杯封套, 以避免空气中微生物和其他种类孢子的污染。2009 年 4 月 13 日小麦种子经过灭菌催芽, 4 月 15 日种植。4 月 18 日 (小麦为一叶一心) 接种。待苗子生长 25d 后 (小麦有 4 个完全展开的叶片) 即 5 月 14 日取样测定以下指标。

收稿日期: 2011-03-29

作者简介: 曹翠玲 (1960—), 女, 教授, 主要从事植物营养与水分生理。E-mail: cuilingcao@tom.com。

通讯作者: 杨建红 (1981—), 女, 硕士研究生, 主要从事植物养分与水分生理。E-mail: yjh620@163.com。

1.2 测定项目

株高测定:直尺法直接测量。

根长测定:直尺法直接测量最长一条根的长度。

植株鲜重及干重测定:用万分之一天平称量根系及植株鲜重,烘干后称量干重,然后计算地上部鲜重及干重。

侵染率测定:取 30 条 1 cm 左右长度的根段,常规方法处理后,依下列公式计算菌根侵染率:

$$\text{侵染率} = \frac{\sum(0\% \times \text{根段数} + 10\% \times \text{根段数} + \dots + 100\% \times \text{根段数})}{\text{观察总根段数}}$$

叶水势:用压力室法测定^[8]。均用小麦幼苗的倒 2 叶测定。

根系活力:用 TTC 法^[8]测定;

叶绿素含量:浸提法^[8]测定;

叶片和根系可溶性蛋白含量:考马斯亮蓝法^[8]测定。

1.3 试验数据处理

用 SPSS16.0 统计分析软件和 Excel 处理,5% 水平下最小显著差异法(LSD)进行比较。

2 结果与分析

2.1 不同磷水平下接种摩西球囊霉对小麦幼苗生物量的影响

本文试验结果(表 1)表明,不论磷水平高低,只有接种了摩西球囊霉的小麦根系出现了摩西球囊霉侵染,且随着磷水平升高侵染率下降。

表 1 不同磷水平下接种摩西球囊霉对小麦幼苗生长的影响

Table 1 Effects of *G. mosseae* on the growth of wheat seedlings under different phosphorus concentration

处理 Treatment		侵染率	株高	根干重	地上部干重	植株干重
不同磷水平 P Level ($\mu\text{mol/L}$)	接种 Inoculation	Infection rate (%)	Plant Height (cm)	Root dry weight (mg/plant)	Shoot dry weight (mg/plant)	Plant dry weight (mg/plant)
P1	CK	0.0	22.2 ± 0.6 (100)	40.58 (100)	68.93 ± 5.89 (100)	28.35 ± 3.05(100)
	GM	32.8	25.8 ± 1.4 (113)	51.18 (126)	89.25 ± 0.92 (129)	38.07 ± 7.85 (134)
P400	CK	0.0	30.1 ± 2.5 (100)	48.77 (100)	89.77 ± 9.29 (100)	41.00 ± 0.99 (100)
	GM	13.6	31.4 ± 1.1 (109.7)	56.20 (115)	106.6 ± 6.72 (119)	50.45 ± 1.48 (123)

注:叶片干重称量取自两片倒二叶之和;CK 代表未接种的植株,GM 代表接种摩西球囊霉的植株。

Note: Leaf dry weight means the sum of the weight of second leaves; CK means plant without inoculation; GM means plant inoculated with *Glomus mosseae*.

表 1 还表明,接种摩西球囊霉对小麦株高有明显影响。虽然随磷水平升高小麦株高也增加,但是同一磷水平下接种摩西球囊霉的小麦幼苗株高均较对照为高,且在磷水平为 1 $\mu\text{mol/L}$ 时差异显著 ($P < 0.05$)。在较高磷浓度下接种摩西球囊霉对小麦的株高几乎无影响。

从植株干重来(表 1),接种摩西球囊霉的小麦幼苗干重均大于未接种的植株干重;从根干重看,当磷浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 时,接种植株根干重比对照增加了 34%,当磷浓度上升为 400 $\mu\text{mol/L}$ 时,接种根干重是对照的 23%;从地上干重来看,也是接种后植株干重均高于未接种植株,低磷下的增加更加明显。这说明低磷条件是 VA 菌根凸显其作用的环境条件。

2.2 不同磷水平下接种摩西球囊霉对小麦幼苗水势的影响

试验测定结果(图 1)显示,不论植株接种 GM 与否,小麦幼苗叶片水势,都是高磷水平下较低,而低磷水平下较高;而接种 GM 后,小麦叶片水势均较未接种的为低。未接种的两个磷处理间差异显著 (P

< 0.05),而接种后两个磷水平之间差异不显著。

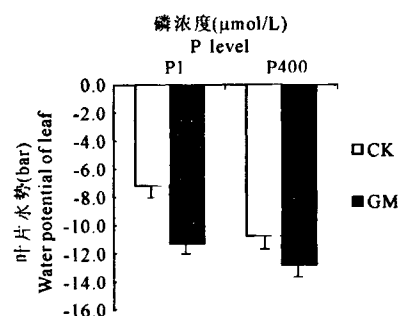


图 1 不同磷浓度下接种摩西球囊霉对小麦幼苗叶片水势的影响

Fig.1 Effects of inoculation *G. mosseae* on the water potential of leaf in wheat seedlings under different phosphorus level

2.3 不同磷水平下接种摩西球囊霉对小麦幼苗根系活力的影响

植物根系是植物吸收无机养分和水分的重要器官。根系活力是根生长情况和代谢水平的综合表现,与植物地上部的生长和营养密切相关。试验结果(图 2)显示,不论是否接种 GM,小麦幼苗的根系活力都随 P 水平升高而增加。同一磷水平下,接种

摩西球囊霉的幼苗根系活力与未接种的幼苗根系活力差异显著 ($P < 0.01$), 它们比对照分别提高了 196% 和 89%, 说明接种摩西球囊霉能增强根系活力。

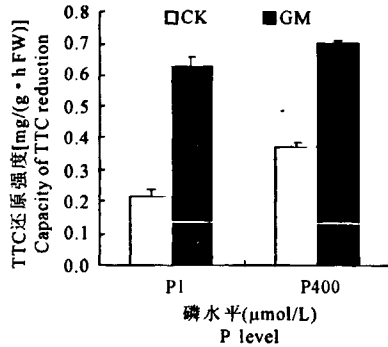


图 2 不同磷水平下接种摩西球囊霉对小麦幼苗根系活力的影响

Fig.2 Effects of inoculation *G. mosseae* on the root activity in wheat seedlings under different phosphorus level

2.4 不同磷水平下接种摩西球囊霉对小麦幼苗叶绿素含量的影响

叶绿素是植物光合作用光反应中捕获光能的物质形式, 光反应为叶片同化 CO_2 提供了保障。因此在一定范围内, 叶绿素含量越高, 光合作用就越强。本文试验结果(表 2)显示, 小麦幼苗叶片总叶绿素含量在接种和未接种两种情况下均随 P 水平的升高而升高; 但是, 在低磷水平下, 接种 GM 似乎利于 chl. b 的合成, 比对照高出 100%; 高磷水平下接种 GM, 似乎有利于 chl. a 的合成, 比未接种的高出 20%。其中的生理机制, 还需要做进一步的探究。

表 2 不同磷水平下接种摩西球囊霉对小麦幼苗叶绿素含量的影响

Table 2 Effects of inoculation *G. mosseae* on the content of chlorophyll of leaf in wheat seedlings under different phosphorus level

处理 Treatment		含量 Content (FW mg/g)		
		Chl. a	Chl. b	Chl.
P1	CK	1.204 ± 0.184	0.400 ± 0.044	1.605
	GM	0.846 ± 0.017	0.801 ± 0.016	1.647
P400	CK	1.621 ± 0.041	0.304 ± 0.094	1.925
	GM	1.946 ± 0.008	0.242 ± 0.017	2.188

2.5 不同磷水平下接种摩西球囊霉对小麦幼苗叶片和根系可溶性蛋白含量的影响

可溶性蛋白是细胞基质及各种细胞器基质的主要组成, 在细胞生理代谢过程中有重要的催化功能。因而可溶性蛋白的多少, 能在一定程度上能够反映

植物内部代谢的活跃程度^[9]。本文结果显示, 不论是否接种摩西球囊霉, 随着磷水平升高, 小麦幼苗根系可溶性蛋白含量(图 3)均随之上升, 且接种株的含量大于未接种处理的, 二者差异显著 ($P < 0.05$); 但是, 叶片可溶性蛋白含量(图 4)却随磷水平升高而降低, 且接种处理的含量高于未接种处理, 二者差异显著 ($P < 0.05$)。

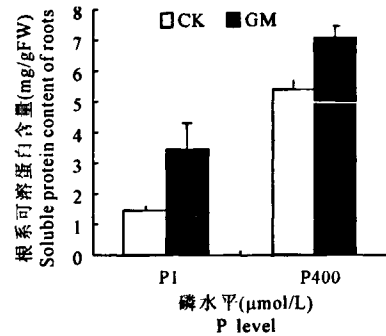


图 3 不同磷水平下接种菌根真菌摩西球囊霉对小麦幼苗根系叶片可溶性蛋白含量的影响

Fig.3 Effects of inoculation *G. mosseae* on the leaves soluble protein of wheat seedlings under different phosphorus concentration

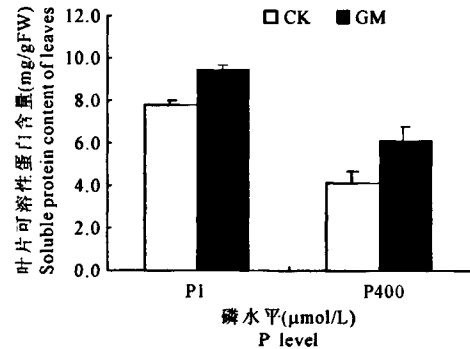


图 4 不同磷水平下接种菌根真菌摩西球囊霉对小麦幼苗叶片可溶性蛋白含量的影响

Fig.4 Effects of inoculation *G. mosseae* on the leaves soluble protein of wheat seedlings under different phosphorus concentration

3 讨论

丛枝菌根(AM)真菌能与 80% 以上的陆生植物形成共生关系。菌根是植物的特殊器官, 对植物养分(特别是 P)起着吸收、转化和储存等作用, 能通过扩大宿主植物根系的吸收范围来改善宿主磷营养状况^[10], 但是, VA 菌根菌侵染作物的限制性环境条件是含磷量。土壤含磷量高抑制菌根侵染, 土壤含磷量越低, 菌根侵染率越高, 菌根的有益效应越显著。大量研究表明, 磷素营养与菌根形成的关系最为密切。土壤磷水平显著影响菌根侵染率从而影响菌丝和孢子的数量^[11-12]。极端缺磷时, 提高磷的供应

会促进菌根真菌的生长发育,但超过了一定磷水平,则开始抑制其生长^[13]。试验表明,韭菜、莴笋、黄瓜等蔬菜菌根的侵染率均随土壤施磷量的增加而显著降低^[14]。本文试验结果也再次证明,低磷条件下,摩西球囊霉易侵染小麦幼苗根系。

AM菌根真菌与植物根系建立的互惠共生体,是通过AM菌根真菌外生菌丝来吸收土壤中的无机磷(Pi)及其它营养元素和水分并转运到宿主植物体内,同时,植物为菌根真菌提供光合产物,AM菌根真菌与农作物共生,可以促进植株生长,最终提高作物产量^[15]。

从生理特性看,小麦幼苗接种摩西球囊霉后,根系活力显著提高,在低磷水平下尤为突出;这主要是由于菌根真菌通过菌丝更为有效地获取了大量的矿质养分,因此,其叶片叶绿素含量就高,从而保障了叶片较强的光合作用,由于光合作用较强,因此累积的光合产物就多,因此,植株水势较低。但是可能由于小麦幼苗较小,同时培养的时间较短,因此,在1 μmol/L磷供给条件下,其叶绿素含量还是较400 μmol/L为低,所以400 μmol/L供磷条件下,小麦植株水势则更低。但接种GM的植株,不论是株高,还是生物量,均较未接种的为好,原因也就在于此。

但是就可溶性蛋白含量来看,不论接种GM与否,1 μmol/L磷供给条件下,其可溶性蛋白含量均较400 μmol/L磷供给条件下的为低,这是由于1 μmol/L磷供给不能保障小麦幼苗光合碳代谢的需要,因此导致植株生长较慢,植株较矮,累积的干物质较少,因此整个植株结构构建减少,从而导致叶片可溶性蛋白表现上表现出较高现象。

因此,本试验作者认为,小麦和摩西球囊霉VAM真菌能形成较好的共生互惠体系,能够促进小麦的干物质增加,促进根系活力及叶绿素含量,促进小麦幼苗的生长。但是需要进一步研究其它VAM

真菌与小麦的共生情况,以便筛选出与小麦有最佳共生关系的VAM真菌。

参考文献:

- [1] 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,1997:139—140.
- [2] 刘润进,陈应龙.菌根学[M].北京:科学出版社,2007.
- [3] N P wellings, A H wearing, J P thompson. Vesicular-arbuscular mycorrhizae (VAM) improve phosphorus and zinc nutrition and growth of pigeonpea in a vertisol[J]. Aust J Agric Res, 1991,42:835—845.
- [4] Lewis JD, Koide RT. Phosphorus supply mycorrhizal infection and plant offspring vigour[J]. Functional Ecology,1990,(4):695—702.
- [5] Stanley MR, Koide RT, Shumway DL. Mycorrhizal symbiosis growth, reproduction and recruitment of *Abutilon theophrasti* Medic. in the field [J]. Oecologia,1993,94:30—35.
- [6] 戴开军,雷国材,董彦卿.VA菌根对冬小麦幼苗生长的影响[J].陕西农业科学,2001,(7):5—7.
- [7] 刘建玲,张福锁,廖文华.不同品种小麦根际磷转化及VA菌根对小麦根际磷转化的影响[J].植物营养与肥料学报,2001,7(1):23—30.
- [8] 高俊凤.植物生理学试验技术[M].西安:世界图书出版公司,2000.
- [9] Higa A, Hidaka T, Minai Y, et al. Active oxygen radicals induce peroxidase activity in rice blade tissues [J]. Bioeci Biotechnol Biochem,2001,65(8):1852—1855.
- [10] Smith SE, Smith FA. Metabolism and transport in AM fungi[J]. Plant and Soil,2002,244:221—230.
- [11] 吴继光,林素贞.囊丛枝菌根菌应用技术手册[S].台湾:台湾省农业试验所,1998.
- [12] Mearthur D A J, Knowles N R. Influence of Vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi on the response of potato to phosphorus deficiency [J]. Plant Physiol, 1993,101(1):147—160.
- [13] 李晓林.施磷水平与VA菌根效应的关系[J].北京农业大学学报,1990,16(2):177—180.
- [14] 蔡宣梅,方少忠,林真.VA菌根及其研究进展[J].福建农业科技,2002,(6):28—29.
- [15] Abbott LK, Robson AD, Boer DG. The effect of phosphorus on the formation of hyphae in soil by the vesicular arbuscular mycorrhizal fungus[J]. New Phytologist,1984,97:437—446.

Effects of *Glomus mosseae* on the growth of wheat seedlings under different phosphorus concentration

CAO Cui-ling¹, YANG Jian-hong¹, FAN Shu-jun², LI Xue-jun¹

(1. College of Life Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. College of Science, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Abstract: In order to investigate the influence of inoculation of *Glomus mosseae* on the wheat growth under low phosphorus level (1 $\mu\text{mol/L}$) and high phosphorus level (400 $\mu\text{mol/L}$), a single-spore inoculation method was used, and during training sunbags was used to cover the whole pot in order to avoid the influence caused by other fungi. The wheat was cultivated in sand supplied with Hogland solution containing different P concentration, and wheat seedlings were inoculated with the spore of *Glomus mosseae*. The results showed that: compared with the uninoculated wheat, the inoculation increased the height, root dry weight and plant dry weight of wheat seedlings. Whether high phosphorus level or low phosphorus level, inoculated with *G. mosseae* fungi, the water potential of leaf was lower than that of uninoculation; the root activity was increased by 196% (1 $\mu\text{mol/L}$ P) and 89% (400 $\mu\text{mol/L}$); and content of chlorophyll was added; and content of soluble protein was increased clearly in root and leaf. Our conclusion was that wheat and *G. mosseae* fungi could form good symbiont.

Keywords: *Glomus mosseae*; single-spore inoculation; airtight bagged; wheat seedling; growth

(上接第 81 页)

Cloning and expression analysis of two novel drought-tolerance genes coding glycine-rich RNA-binding proteins in *Malus* plants

WANG Shun-cai^{1,2}, LIANG Dong², SHI Shou-guo², MA Feng-wang², SHU Huai-rui²

(1. College of Life Science and Chemistry, Tianshui Normal University, Tianshui, Gansu 748100, China;

2. College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Two *Malus* (apple) drought-related genes, *MpGR-RBP1* (HM042682) and *MhGR-RBP1* (HQ380209), were successfully identified from the drought stress-treated *Malus prunifolia* and *M. hupehensis*, respectively, using library screening, in silico cloning and RT-PCR. The proteins of two homologous genes, *MpGR-RBP1* and *MhGR-RBP1*, were consisted of 171 and 164 amino acids, respectively. Their deduced amino acids contain a N-terminal RNA recognition motif (RRM) and a C-terminal glycine-rich domain, a structure which was found in stress-induced GR-RBP protein family in other plants. Bioinformatics analysis confirmed that both *MpGR-RBP1* and *MhGR-RBP1* proteins belong to the plant GR-RBP family, members of which play important roles in post-transcriptional regulation of gene expression under various stress conditions. The expression profiles of the two apple *GR-RBP* transcripts were detected by quantitative real-time RT-PCR. *MpGR-RBP1* and *MhGR-RBP1* were expressed in various plant tissues including roots, shoots, and leaves. Both *MpGR-RBP1* and *MhGR-RBP1* were up-regulated under drought stress, with expression levels in the former being higher than in the latter. These results indicated that *MpGR-RBP1* and *MhGR-RBP1* might be involved in apple plants response to drought stress, and it suggested that differential configuration of drought-tolerant proteins may be contributed to capability of drought resistance in apple plants.

Keywords: *Malus*; glycine-rich RNA-binding protein; drought stress; gene expression