

尾叶桉混合菌根营养生理研究*

陈应龙 弓明钦 王凤珍 陈羽

摘要 桉树是具有混合菌根(ECM 和 VAM)的树种。关于混合菌根营养生理的研究,国内外均未见报道。本文在苗圃接种试验的基础上,研究了尾叶桉苗期混合接种 ECM 菌彩色豆马勃和 VAM 菌苏格兰球囊霉对宿主营养生理的影响。结果表明,尾叶桉苗期混合接种菌根真菌后,对苗木根系营养生理产生了较大的影响。菌根接种能显著提高苗木的根系活力,两种混合接种方式分别比未接种对照苗提高了 31.90% 和 28.69%,并好于两种单接种的处理。两种混合接种 T2 和 T4 根系 iPA 和 ABA 含量也有显著提高,其中,iPA 分别增加了 130.41% 和 40.72%。混合接种苗木根系可溶性多糖含量分别是对照的 2.75 和 2.11 倍,但低于单接种苗;4 种菌根真菌接种苗木根系氨基酸含量均较高,分别为对照苗的 3~5 倍,其中混合接种苗含量高于单接种。菌根营养生理的这些变化,在一定程度上反映了菌根的接种效应。

关键词 尾叶桉 混合菌根 营养生理 VAM 菌 ECM 菌

混合菌根(ecto- and endomycorrhizas)是指在同一株植物的根系上,由不同种或不同种类的真菌形成不同类型的菌根,或者在同一小根上既有外生菌根形成的菌套(mantle)和哈蒂氏网(Hartig net),又有内生菌根真菌形成的泡囊(vesicular)或丛枝(arbuscular)^[1,2]。国内外研究表明,在自然生态系统中,许多既可形成外生菌根(ECM),又可形成内生菌根(VAM)的树种,常常会形成混合菌根。据报道,桉(*Eucalyptus*)、柳(*Salix*)、杨(*Populus*)、金合欢(*Acacia*)、柏木(*Cupressus*)、榆(*Ulmus*)及木麻黄(*Casuarina*)等属的树种,在一定条件下均发现有混合菌根的形成^[1-5]。

国内外对桉树 ECM^[6-8]和 VAM^[2,9,10]研究较多,对桉树混合菌根研究很少^[11,12],尚未见有关混合菌根生理生化方面的研究报道。本文是在对桉树 ECM 和 VAM 分别研究的基础上,开展了桉树混合菌根的研究工作。苗期试验证明,混合菌根接种对桉树苗木营养生理有显著的影响,具有较大的应用前景(另文报道)。本文报道尾叶桉混合菌根营养生理研究的初步结果。

1 材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 菌种 ECM 菌选用彩色豆马勃[*Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch] Pt 9303 菌株,由本课题组分离培养;VAM 菌选用苏格兰球囊霉[*Glomus caledonium* (Nicol. & Gerd) Trappe & Gerd] Gc 90068 菌株,由南京土壤所林先贵先生提供。接种所用的菌剂分别采用液体培养和生物繁殖法生产。

1997—05—08 收稿。

陈应龙研究实习员,弓明钦,王凤珍,陈羽(中国林业科学研究院热带林业研究所 广州 510520)。

* 本研究为国家自然科学基金“杉木、桉树人工林长期生产力保持机制研究”(1997~1999年)和中澳合作 ACIAR 9425 项目“华南地区桉树人工林的外生菌根菌”(1996~1999年)内容之一。本文得到北京林业大学雷增普教授和北京市农林科学院张美庆研究员的指导和审阅,特此致谢。

1.1.2 试验树种 尾叶桉(*Eucalyptus urophylla* S. T. Blake)种子由本所吴菊英先生提供,种源号为14531。

1.1.3 育苗基质 采用消毒的混合基质(由蛭石、泥炭、河砂按照体积比1.5:1:2混匀)。

1.2 方法

1.2.1 接种方法 待无菌苗长到3 cm左右时进行移苗,同时进行第一次接种。ECM菌采用菌丝球接种,每株幼苗接种菌丝球2~3粒;VAM菌用孢子菌剂接种。20 d后,根据试验设计,对需要进行混合接种的苗木,采用注入法进行第二次接种。

1.2.2 试验设计 试验设5个处理:T1、T3分别为VAM菌和ECM菌单接种,T2和T4为混合接种(T2为先接种VAM菌Gc 90068,第二次接种ECM菌Pt 9303;T4接种顺序与T2相反,即先接种Pt 9303,第二次接种Gc 90068),T5为对照(未接种)。4个重复,重复内各处理苗木10株,均按完全随机区组设计。

1.2.3 理化分析方法 完成接种后5个月时,对试验苗木进行理化分析。

(1)根系活力:用TTC法测定试验苗木的根系活力^[13]。实验材料采用苗木的伤流液,反应时间为3 h,在721-B型分光光度计上比色。根据各处理苗在485 nm的OD值,由回归直线求出TTC还原浓度,按下面的公式计算出TTC还原强度,用来表示根系活力的大小。

$$\text{TTC 还原强度} = \text{TTC 还原量(g)} / [\text{根系鲜重(g)} \times \text{反应时间(h)}]$$

$$\text{TTC 还原量(g)} = \text{相应TTC浓度(mg/mL)} \times \text{定容体积(mL)} \times 10^{-3}(\text{g/mg})$$

(2)植物生长激素iPA和ABA:细胞分裂素(iPA)和脱落酸(ABA)的测定,均采用酶联免疫法(ELISA)^[14],激素ELISA试剂盒由南京农业大学提供。

(3)可溶性多糖及氨基酸含量:可溶性多糖含量的测定,用蒽酮比色法;氨基酸含量的测定采用茚三酮比色法^[15]。根据标准溶液所得的相应直线回归方程,计算出样品中多糖和氨基酸的含量。

2 结果与分析

2.1 对苗木根系活力的影响

根系是植物吸收水分和矿质元素的主要器官,也是许多有机物的初级合成场所,因此,根系的活力直接影响植物的生长和发育。试验苗木根系活力测定结果,表明菌根真菌接种能明显提高苗木的根系活力(表1、图1)。

表1 试验苗木根系活力测定结果

处 理	TTC 还原浓度(mg/mL)	TTC 还原量(g)	根系活力($\times 10^{-3}$)	比对照增加(%)
T1	2.757	0.069	2.015	21.97
T2	2.293	0.057	2.179	31.90
T3	1.949	0.049	1.904	15.25
T4	2.431	0.061	2.126	28.69
T5	2.339	0.058	1.652	-

在5种处理苗木中,混合菌根接种T2和T4苗木根系活力均较高,单接种试验苗次之;未接种对照苗木根系活力最低。4种接种处理中,混合接种T2根活力最高,比对照提高了

31.90%, T3 根系活力较低, 比对照增加了 15.25%。各处理苗木根系活力从大到小依次为: T2、T4、T1、T3 和 T5。

2.2 对根系 iPA 和 ABA 含量的影响

植物生长激素对植物的生长和发育起着重要的调节和控制作用。试验苗根系 iPA 和 ABA 含量分析结果表明(表 2、图 2), 菌根菌接种影响苗木根系生长激素的含量。接种苗木根系 iPA 含量均显著高于对照, 其中单接 Pt 9303 的苗木 iPA 含量最高, 比对照增加了 254.12%; 两种混合接种分别增加了 130.41% 和 40.72%, T2 要高于 T4。不同菌根菌接种对苗木 ABA 含量影响有一定的差异, 其中 T3 根系 ABA 含量最高, 比对照增加了 119.71%, T1 和 T2 增加了 12.41%, T4 含量与对照相同。

表 2 苗木根系 iPA 和 ABA 含量分析

激 素	T1	T2	T3	T4	T5(CK)
iPA($\times 10^5$ pmol/g FW)	5.13	4.47	6.87	2.73	1.94
比 T5 增加(%)	164.43	130.41	254.12	40.72	-
ABA($\times 10^4$ pmol/g FW)	4.62	4.62	9.03	4.11	4.11
比 T5 增加(%)	12.41	12.41	119.71	-	-

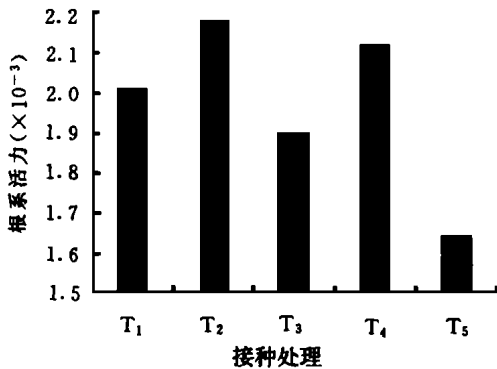


图 1 苗木根系活力

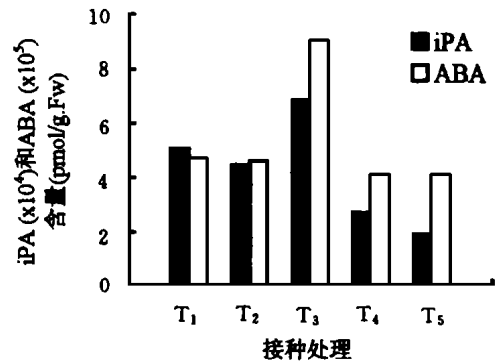


图 2 根系 iPA 和 ABA 含量

2.3 可溶性糖和氨基酸含量的变化

根据标准糖溶液(由葡萄糖配制)及标准氨基酸溶液(由亮氨酸配制)各浓度及相应光密度值, 得出两者的直线回归方程分别为:

$$y_1 = -0.0009 + 0.003x_1$$

$$y_2 = 0.0004 + 0.0028x_2$$

从各处理苗木根系伤流液中可溶性多糖和氨基酸含量的分析结果可以看出, 接种苗木多糖和氨基酸含量均明显高于对照(表 3、图 3)。

表 3 试验苗伤流液中可溶性多糖和氨基酸含量分析

处理	多糖含量 (mg/kg FW)	氨基酸含量 (mg/kg FW)
T1	8.568(7.85)	6.636(3.01)
T2	3.002(2.75)	11.476(5.20)
T3	13.272(12.15)	11.340(5.15)
T4	2.304(2.11)	11.520(5.22)
T5	1.092(1.00)	2.208(1.00)

注: 含量数据后括号内的数字为其与对照相应含量的比值。

5种处理苗木可溶性多糖含量变化较大,其中,单接种T3和T1苗木糖含量最高,分别为对照的12.15和7.85倍,混合接种T2和T4苗木糖含量比单接种的低,分别是对照的2.75和2.11倍。菌根接种苗木氨基酸含量均高于未接种对照,混合接种T2和T4氨基酸含量较高,分别是对照的5.20和5.22倍;单接种T1和T3分别为对照的3.01和5.15倍。分析结果表明,苗木接种菌根菌后,有利于根系对多糖和氨基酸的合成;菌根对宿主多糖和氨基酸的合成与积累起着促进作用;与单接种相比,混合接种更加有利于氨基酸的合成,但对多糖的合成效果明显差于单一类型的菌根菌接种。

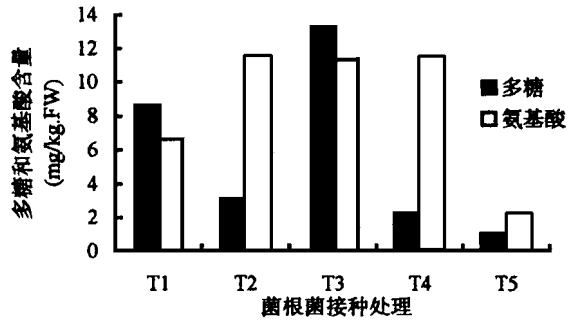


图3 根系多糖和氨基酸含量

3 结论与讨论

(1) 混合菌根对宿主根系活力的影响: 接种菌根菌后, 能显著提高苗木根系的活力, 混合接种和单接种对根系活力均有较大的影响; 其中两种混合接种苗木的根系活力均较大, 不仅显著高于未接种对照, 而且也高于两种单接种苗木。

(2) 菌根对植物激素的影响: 植物生长激素对植物的生长和发育起着重要的调节和控制作用, iPA 和 ABA 就是其中两种重要的生长激素, 前者能促进细胞的分裂和芽的分化, 后者主要影响根系的发育, 诱导侧根发生^[16]。试验苗根系激素分析结果表明, 接种菌根真菌能提高苗木根系 iPA 和 ABA 含量。国内外也有关于 ECM 菌在纯培养时能产生植物生长激素的报道^[1, 17], 但未见有关混合菌根与宿主生长激素方面的研究报道。

(3) 菌根对宿主根系可溶性多糖的影响: 菌根菌接种苗木可溶性多糖含量变化较大, 菌根菌接种能提高宿主对碳水化合物的积累。混合接种对宿主糖类代谢也产生了影响, 根系多糖含量明显高于未接种对照, 但其糖含量要低于两种单接种, 说明混合接种菌根真菌对宿主营养可能有更大的依赖性。Foster 等对辐射松(*Pinus radiata* D. Don) 的 ECM 作电镜观察, 发现宿主菌根细胞中多糖是向根内真菌的菌丝中转移的^[18]。Ling-Lee 对采自于不同环境和不同生长阶段的扫帚桉(*Eucalyptus fastigata* Deane & Maid) 菌根进行组织化学分析, 同样得出菌根真菌对宿主根部碳水化合物有依赖关系的结论^[19]。这说明菌根菌感染根系后, 其生长和发育所需要的碳水化合物, 均来自于宿主, 根系附近形成的大量营养菌丝对根系糖类代谢可能会产生一定的影响; 另外, 同一根系上感染了两种类型的菌根真菌, 对根系多糖的消耗量可能更多, 但对整个根系糖含量是否显著减低, 未见报道。如何对这些现象作出科学的解释, 还有待深入研究。

(4) 混合接种 ECM 真菌和 VAM 真菌, 对尾叶桉幼苗根系营养生理产生的这些影响, 在一定程度上反映了菌根的接种效应。混合菌根不同接种方式产生了不同的接种效果^[20], 而混合菌根生理生化研究可以从生理学的角度探讨菌根的作用机理, 为混合菌根在生产实践中的应用提供理论依据。

参 考 文 献

- 1 郭秀珍, 毕国昌. 林木菌根及应用技术. 北京: 中国林业出版社, 1989.
- 2 弓明钦, 陈应龙, 仲崇祿. 菌根研究及应用. 北京: 中国林业出版社, 1997.
- 3 赵忠, 马利欣, 段安安, 毛白杨 VA 菌根与外生菌根关系的研究. 林业科学, 1994, 30(2): 111 ~ 116.
- 4 Lapeyrie F, Garbaye J, Oliveire, et al. Controlled mycorrhization of *Eucalyptus*. In: Mycorrhizas in ecosystems. London: Academic Press, 1992. 293 ~ 299.
- 5 Brundrett M, Bourgher N, Dell B, et al. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Canberra: Pirie Printers, 1996. 34 ~ 35.
- 6 弓明钦, 王凤珍, 陈羽. 桉树外生菌根研究及进展. 土壤学报, 1994, 31(增刊): 127 ~ 133.
- 7 Brundrett M. Mycorrhizas in Natural Ecosystems. In: Begon, M Fitter, A H and Macfadyen A eds. Advances in Ecological Research. London: Academic Press Limited, 1991, 2: 171 ~ 313.
- 8 Horan D P, Chilvers G A, Lapeyrie F. Time-sequence of the infection process in eucalypt ectomycorrhizas. New Phytol., 1988, 109: 451 ~ 458.
- 9 苏俐英, 梁秀棠. 广西栽培树种菌根调查初报. 广西植物, 1985, 5(2): 127 ~ 138.
- 10 Abbott L K, Robson A D. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. Agriculture Ecosystems and Environment, 1991, 35: 121 ~ 150.
- 11 Malajczuk N, Linderman R G, Kough J, et al. Presence of VA mycorrhizae in *Eucalyptus* spp. and *Acacia* sp. and their absence in *Bankia* sp. after inoculation with *Glomus fasciculatus*. New Phytol., 1981, 87: 567 ~ 572.
- 12 Chilver G G, Lapeyrie F F, Horan D P. Ectomycorrhizal vs endomycorrhizal fungi within the same root system. New Phytol., 1987, 107: 441 ~ 448.
- 13 邹琦. 植物生理生化实验指导. 北京: 中国农业出版社, 1995. 32 ~ 33.
- 14 吴颂如, 陈婉芬, 周燮. 酶联免疫法(ELISA)测定内源激素. 植物生理学通讯, 1988, (5): 53 ~ 57.
- 15 张志良. 植物生理学实验手册. 上海: 华东师范大学出版社, 1990. 160 ~ 162, 172 ~ 175.
- 16 潘瑞炽, 董愚得. 植物生理学(第三版). 北京: 高等教育出版社, 1995.
- 17 Moser M. Bertrage zur kenntnis der wuchstoffsbeziehungen in Bereich ectotrophen mykorrhizen. Arch. Mikrobiol. 1959, 34: 251 ~ 264.
- 18 Foster R C, Marks G C. The fine structure of the mycorrhizas of *Pinus radiata* D. Don. Aust. J. Biol. Sci., 1966, 19: 1027.
- 19 Ling-Lee M, Ashford A E, Chilvers A G. A histochemical study of polysaccharide distribution in eucalypt mycorrhizas. New Phytol., 1977., 78: 329 ~ 335.
- 20 Chen Y L, Gong M G, Wang F Z, et al. Effect on growth of *Eucalyptus* by inoculation with ECM and VAM fungi. In: Proceedings of IUFRO Conference on Silviculture and Improvement of Eucalypts. Salvador, Brazil: August 1997.

Study on Mycorrhizal Physiology of *Eucalyptus urophylla* Coinoculated with ECM and VAM Fungi

Chen Yinglong Gong Mingqin Wang Fengzhen Chen Yu

Abstract It is well known that mycorrhizal associations are an integral component of natural and managed ecological system and most vascular plants to form one of the two most common associations: either ECM or VAM. However, in contrast, the genus *Eucalyptus* is capable of forming both ECM and VAM, even in the same root system. This paper represents the analysis results on physiology of ecto- and endomycorrhizas of *E. urophylla* colonised by both *Glomus caledonium* and *Pisolithus tinctorius* isolates in nursery. The root activity and the concentration of total amino acids in root-tissue fluid of coinoculated seedlings increased by 28.69% ~ 31.90% and 5.20 ~ 5.22 times respectively compared to that of uninoculated ones 5 months after inoculation. Polysaccharides concentration in mycorrhizal roots varied according to different fungal treatments, and were generally 2.11 ~ 2.75 times of that of the controls. However, that in roots of seedlings which colonised by both ECM and VAM fungi was extremely lower when comparing to that inoculated with individual fungus. The changes of physiology reflect inoculating effect on plant growth.

Key words *Eucalyptus urophylla* ecto- and endomycorrhiza nutrient and physiology VA mycorrhizal fungus ectomycorrhizal fungus

Chen Yinglong, Assistant Engineer, Gong Mingqin, Wang Fengzhen, Chen Yu (The Research Institute of Tropical Forestry, CAF Guangzhou 510520).