

文章编号: 1001-3776 (2015) 03-0043-04

## 摩西球囊霉与伯乐树的共生效应研究

乔琦<sup>1,2</sup>, 郭幸飞<sup>1</sup>, 邢福武<sup>2</sup>, 陈红锋<sup>2</sup>, 王发国<sup>2</sup>, 刘东明<sup>2</sup>

(1. 河南科技大学农学院, 河南 洛阳 471003; 2. 中国科学院华南植物园, 广东 广州 510650)

**摘要:** 选用丛枝菌根 (AM) 真菌摩西球囊霉 (*Glomus eburneum*) 对伯乐树种子 (*Bretschneidera sinensis*) 进行接种, 以未经真菌处理的种子为对照, 当种子萌发并长成幼苗 8 周后, 分别测定两组不同处理下幼苗叶片的生理指标 (SOD 酶活性、可溶性糖含量、叶绿素含量、水含量) 和形态学指标 (平均苗高、平均地径、平均叶片数、侧枝数), 以探求有利于伯乐树栽培的生长条件。结果表明: 经 AM 处理后 SOD 活性有所增强, 而可溶性糖含量、叶绿素含量与水含量则明显增加; 接种过的幼苗的平均苗高、地径、叶片数、侧枝数以及成活率均明显优于对照组; 综上所述, AM 真菌摩西球囊霉对伯乐树的生长具有一定的促进作用。

**关键词:** 伯乐树; 摩西球囊霉; 共生

中图分类号: S718.43

文献标识码: A

## Symbiosis Effect of *Glomus eburneum* on Seed of *Bretschneidera sinensis*

QIAO Qi<sup>1,2</sup>, XING Fu-wu<sup>2</sup>, CHEN Hong-feng<sup>2\*</sup>, WANG Fa-guo<sup>2</sup>, LIU Dong-ming<sup>2</sup>

(1. College of Agriculture, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China; 2. South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

**Abstract:** Seeds of *Bretschneidera sinensis* were inoculated with *Glomus eburneum* and no treatment as control. Physiological index of seedlings leaves was determined from inoculated seed and the control, including SOD activity, the content of soluble sugar, chlorophyll content and water content. And their morphological index was also measured, including mean seedling height, ground diameter, number of leaf, the number of lateral shoot. The results showed that treated seedlings had better SOD activity, more soluble sugar content, chlorophyll content and water content. Mean height, ground diameter, number of leaf and lateral shoot of treated seedlings were evidently higher than that of the control. The experiments demonstrated that *Glomus eburneum* could promote the growth of *B. sinensis* seedlings.

**Key words:** *Bretschneidera sinensis*; *Glomus eburneum*; symbiosis

伯乐树 (*Bretschneidera sinensis*), 又名钟萼木, 单种科植物, 是以我国为分布中心的东亚植物区系的特有成分, 作为第三纪古热带植物区系的孑遗种, 在研究被子植物的系统发育和古地理、古气候等方面都有重要的科学价值<sup>[1-2]</sup>。该种零星分布在长江以南各省区的山区地带, 因长期以来生境破坏严重, 现有母树资源稀少, 结实率低, 天然更新困难, 处于珍稀濒危的境地, 被列为濒危植物<sup>[3]</sup>、国家一级重点保护野生植物<sup>[4]</sup>和国家一级珍贵树种<sup>[5]</sup>。目前国内外关于伯乐树的研究报道目前限于系统发育<sup>[6-10]</sup>、播种繁殖<sup>[11-12]</sup>、组织培养<sup>[13]</sup>和物候特征<sup>[14]</sup>等方面。乔琦等<sup>[15-16]</sup>采用石蜡切片、整体封片、扫描电镜和激光共聚焦扫描等技术研究其根的表面特征和形态

收稿日期: 2014-08-28; 修回日期: 2015-03-14

基金项目: 国家自然科学基金 (31170196); 河南省科技攻关项目 (122102110108); 河南科技大学校青年科研基金项目 (13000707); 河南科技大学博士科研基金项目 (09001495)

作者简介: 乔琦 (1971-), 女, 河南洛阳人, 副教授, 博士, 从事保护生物学研究。

结构,从生态解剖学角度揭示其对生境的适应和特殊要求,结果显示:伯乐树作为特殊的菌根型木本植物,根尖表面少见根毛分化;初生结构包括表皮、皮层和中柱三部分,系原始的发育类型,菌根菌以单菌丝或菌丝网侵入根表皮,可刺激表皮分泌沉积较厚的无定形物质,入侵后可在皮层间隙内大量分枝,还能进一步形成泡囊结构;菌根菌在寄主细胞内常包围在淀粉粒的周围吸收营养,同时部分菌丝在细胞内被分解形成小泡和碎屑,为寄主细胞提供营养以形成共生关系。

由于伯乐树根尖表面少见根毛分化,使其大批幼苗在高温少雨的夏季极易死亡,成为其濒危的主要原因之一<sup>[17]</sup>,因此幼苗对生境有着特殊的要求。如果丛枝菌根(AM)真菌可以和伯乐树形成共生关系,不但可以扩大根系的吸收范围,提高从土壤溶液中吸收无机养料的能力和效率,还能吸收和转化根部的光合产物,提高根的新陈代谢率,促进其生长并提高抗逆能力<sup>[18]</sup>。因此,本实验采用伯乐树原生境普遍存在的摩西球囊霉(*Glomus eburneum*)接种伯乐树,测定了不同处理下幼苗叶片中的部分生理指标和形态指标,以期为该特有珍稀植物的保护和培育提供基本资料。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

2007年12月期间,采摘来自广东省南昆山区级自然保护区的伯乐树新鲜种子。用长枝修剪取红色已成熟的蒴果,装于纸袋中,室温保存,4~16h后蒴果自然开裂,从中取出种子,去除红色假种皮,4℃下冷藏,3周以后播种,播种在13cm×17cm的栽培塑料袋中,并根据不同的试验需要移栽幼苗。移栽前完成挖穴,采用穴状整地方式,大小约为60cm×60cm×50cm。株距和行距均为1m。

摩西球囊霉(*Glomus eburneum*),22.25个孢子/mL菌剂,来自北京市农林科学院植物营养与资源研究所“丛枝菌根真菌种质资源库(BGC)”,编号BGCHK02C。从香港紫金花根际分离,用高粱扩繁,500g。

### 1.2 方法

先将100粒伯乐树种子在4℃湿砂贮藏4周后取出,分为两组,一组用真菌处理,采用层播法接种伯乐树种子,接种剂为高粱繁殖的土沙混合物,内含供试菌种孢子、被侵染根段及根外菌丝。另一组不做任何处理,种植在砂土混合物中,其它生长条件相同,期间隔日浇水和观察生长情况。

8周后,分别剪取两种不同处理下的伯乐树苗树叶适量,采用氮蓝四唑(NBT)光化还原法<sup>[19]</sup>测量叶片的SOD酶活性;采用蒽酮比色法测定可溶性糖含量;另外采用常规植物生理学方法<sup>[20]</sup>测定其叶绿素含量、水含量以及树苗的各项形态学指标(比叶面积,平均地径,平均苗高,侧枝数,平均叶片数),并结合幼苗的成活率,来衡量菌根对其生长状况的影响。

## 2 结果与分析

### 2.1 有无菌根对伯乐树叶片的SOD酶活性的影响

依据超氧化物歧化酶抑制氮蓝四唑(NBT)在光下的还原作用来确定酶活性大小,并比较不同处理间的差异。一个酶活性单位定义为将NBT的还原抑制到对照一半(50%)时所需的酶量。SOD总活性以1g鲜重酶单位表示。测定结果及不同处理间的显著性差异见表1。

表1 不同处理伯乐树幼苗叶中SOD酶活性  
Table 1 SOD activity in leaves of *B. sinensis* under different treatments

处理	SOD活性/ $U \cdot g^{-1}$	5%显著水平
菌根组	80.09 ± 16.51	a
对照组	71.86 ± 13.49	a

### 2.2 有无菌根对伯乐树叶片的可溶性糖含量的影响

采用蒽酮法测定不同处理下的幼苗树叶中可溶性糖含量,并比较不同处理间的差异。测定结果及差异显著性见表2。

由表2可知,经丛枝菌根真菌处理过的伯乐树幼苗叶片的可溶性糖含量高于无菌根处理的伯乐树,并达到极显著水平。

表2 不同处理下伯乐树幼苗叶片内的可溶性糖含量  
Table 2 The content of soluble sugar in leaves of *B. sinensis* under different treatments

处理	可溶性糖含量/ $mg \cdot g^{-1}$	5%显著水平	1%极显著水平
菌根组	31.13 ± 0.416	a	A
对照组	10.69 ± 0.309	b	B

### 2.3 有无菌根对伯乐树叶片光合色素含量的影响

根据叶绿素在特定提取溶液中对特定波长的光有最大吸收, 用分光光度计测定在该波长下叶绿素溶液的吸光度(也称为光密度), 再根据叶绿素在该波长下的吸收系数即可计算叶绿素含量。在同样条件下分别测定不同处理的伯乐树幼苗叶片的叶绿素 a, b 含量, 测定结果见表 3。

表 3 不同处理伯乐树幼苗叶片中叶绿素 a, b 含量  
Table 3 Chlorophyll content in leaves of *B. sinensis* under different treatments

处理	叶绿素 a /mg · g <sup>-1</sup>	叶绿素 b /mg · g <sup>-1</sup>	叶绿素 a+b /mg · g <sup>-1</sup>
菌根组	1.986 ± 0.014	0.897 ± 0.017	2.681 ± 0.016
对照组	1.317 ± 0.016	0.728 ± 0.019	2.041 ± 0.021

由表 3 可见, 经 AM 处理的伯乐树幼苗叶片中的叶绿素 a, 叶绿素 b 以及叶绿素 a + b 的含量均高于未经菌根处理的伯乐树。这说明菌根对于伯乐树幼苗的光合作用具有一定的促进作用。

### 2.4 有无菌根处理对伯乐树幼苗水含量的影响

分别测定不同处理伯乐树叶片的含水量, 饱和含水量, 相对含水量, 自由水含量, 束缚水含量, 测定结果见表 4。

表 4 不同处理伯乐树幼苗叶片的水含量  
Table 4 Water content in leaves of *B. sinensis* under different treatments

处理	含水量	饱和含水量	相对含水量	自由水含量	束缚水含量 %
菌根组	71.96 ± 2.59	78.15 ± 1.96	83.25 ± 2.31	52.06 ± 2.21	22.52 ± 1.03
对照组	71.32 ± 2.46	75.96 ± 2.13	77.87 ± 2.25	35.41 ± 1.79	33.91 ± 1.97

由表 4 可知, 与未经 *G. eburneum* 处理的伯乐树相比, 有菌根的伯乐树叶片的含水量, 饱和含水量, 相对含水量, 自由水含量均有所增加, 束缚水含量降低, 其束缚水含量与自由水含量的比值比无菌根伯乐树明显降低了 54.8%。

### 2.5 有无菌根处理对伯乐树幼苗形态学指标的影响

分别测定不同处理的伯乐树幼苗的平均苗高, 平均地径, 平均叶片数, 侧枝数, 并计算幼苗的成活率。测定结果见表 5。

表 5 不同处理伯乐树幼苗的形态学指标  
Table 5 Morphology index in leaves of *B. sinensis* under different treatments

处理	平均苗高/cm	平均地径/cm	平均叶片数/片	侧枝数	幼苗成活率%
菌根组	16.07 ± 1.39	0.985 ± 0.027	31.3 ± 3.2	7.6 ± 0.8	49
对照组	8.72 ± 1.42	0.914 ± 0.023	23.2 ± 3.5	5.7 ± 0.6	21

表 5 中的数据显示, 接种 *G. eburneum* 可显著促进伯乐树幼苗的生长。接种真菌处理与对照相比, 平均苗高、平均地径、平均叶片数、侧枝数等指标均有所增加, 并且菌根处理幼苗的成活能力更是远远高于无菌根幼苗, 成活率达 49%, 而无菌根幼苗的成活率仅有 21%。这有力地说明菌根的存在对于伯乐树的生长具有明显的促进作用。

## 3 讨论

本试验结果表明, AM 真菌能提高伯乐树抗氧化酶 SOD 的活性, 但差异达不到显著水平, 这是因为植物抗氧化酶的活性可能受多种因素调控<sup>[21]</sup>。

AM 真菌通过改善作物的光合参数提高植株叶片光合速率与光合能力, 间接获得与对照相比更多的可溶性糖或淀粉等碳水化合物, 进而改善或促进植物的碳素营养。本试验结果表明, 接种丛枝菌根真菌能够明显提高伯乐树幼苗的叶绿素含量, 同时其可溶性糖含量也显著增高。这与前人的研究结果相似<sup>[22]</sup>。

George 等<sup>[23]</sup>发现菌根对水流经土壤—植物—大气连续有正效应。近年来, 国内外科研人员普遍认为 AM 真菌能促进植物对水分的吸收利用, 改善植株的水分代谢, 尤其在水分胁迫环境下, 菌株能通过 AM 真菌菌丝起桥梁的作用<sup>[24]</sup>, 把根系中难以吸收的土壤水分连接起来, 从而使植株维持较高的蒸腾速率, 降低叶面温度, 获得较非菌根植株更高的光合效率和水分利用率。本试验中, 经菌根处理的伯乐树幼苗叶片的含水量, 饱和含水量和相对含水量均高于无菌根伯乐树, 由此可见, AM 真菌能明显改善伯乐树的水分营养状况, 菌根植株水分代谢活动强于非菌根植株。

从形态学角度上分析, 菌根能够明显促进伯乐树的营养生长, 接种丛枝菌根真菌后, 伯乐树幼苗的平均苗

高, 平均地径, 平均叶片数, 侧枝数均显著增加, 并且幼苗的成活率也得到大幅度的提高, 说明接种 AM 真菌可显著促进植株营养生长, 可扩展其根系吸收范围, 这对于少见根毛分化的伯乐树育苗具有十分重要的意义。本实验说明菌根化技术在保护和促进一些濒危树种的生长方面具有广阔的应用潜力, 应广泛应用于某些濒危菌根型植物的就地保护和迁地保育中。但由于本试验只选择性地测定了伯乐树生长状况的部分指标, 具有一定的局限性, 还有待开展更加全面和深入的研究。

#### 参考文献:

- [1] 吴征镒. 中国种子植物属的分布区类型专辑[J]. 云南植物研究, 1991 (Supp. IV): 29.
- [2] 吴征镒, 路安民, 汤彦承. 中国被子植物科属综论[M]. 北京: 科学出版社, 2003.
- [3] 汪松, 解焱. 中国物种红色名录[M]. 北京: 中国高等教育出版社, 2004.
- [4] 傅立国. 中国植物红皮书[M]. 北京: 科学出版社, 1992.
- [5] 于永福. 国家重点保护野生植物名录(第一批)[J]. 植物杂志, 1999 (5): 4-11.
- [6] Tang Y. Notes on the systematic position of *Bretschneidera sinensis* as shown by its timber anatomy [J]. Bull Fan Merm Inst Bio. 1935 (6): 195.
- [7] 刘成运. 伯乐树科及其近缘科的花粉形态研究[J]. 云南植物研究, 1986, 8 (4): 441-450.
- [8] Tobe H. The embryology and taxonomic relationship of *Bretschneidera* (Bretschneideraceae)[J]. Bot J Linn Soc, 1990 (103): 139-152.
- [9] 吕静, 胡玉佳. 伯乐树茎次生木质部结构的研究[J]. 植物学报, 1994, 36 (6): 459-465.
- [10] De Craene L P R, Yang T Y A, Schols P, et al. Floral anatomy and systematics of *Bretschneidera* (Bretschneideraceae) [J]. Bot Linn Soc, 2002 (139): 29-45.
- [11] 李石周, 刘爱强, 邓赞文, 等. 伯乐树播种繁育试验[J]. 长白山自然保护, 1995 (4): 10-12.
- [12] 伍铭凯, 杨汉远, 龙舞, 等. 伯乐树种子育苗试验[J]. 贵州林业科技, 2006, 34 (4): 39.
- [13] 郭治友, 龙应霞, 肖国学. 钟萼木的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2007, 43 (1): 127.
- [14] 王娟, 刘仁林, 廖为明. 伯乐树生长发育节律与物候特征研究[J]. 江西科学, 2008, 26 (4): 552-555.
- [15] 乔琦, 文香英, 陈红锋, 等. 中国特有濒危植物伯乐树根的生态解剖学研究[J]. 武汉植物学研究, 2010, 28 (5): 544-549.
- [16] 黄久香, 庄雪影. 车八岭苗圃三种国家二级保护植物的菌根研究[J]. 华南农业大学学报, 2000, 21 (2): 38-41.
- [17] 乔琦, 秦新生, 邢福武, 等. 珍稀植物伯乐树一年生更新幼苗的死亡原因和保育策略[J]. 生态学报, 2011, 31 (16): 4709-4716.
- [18] Brachmann A, Parniske M. The most widespread symbiosis on Earth[J]. PLoS Biol, 2006, 4 (7): 1111-1112.
- [19] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutases: Occurrence in higher plants[J]. Plant Physiol, 1977, 59 (2): 309-314.
- [20] 龚富生, 张嘉宝. 植物生理学实验(第一版)[M]. 北京: 气象出版社, 1995.
- [21] 郭绍霞, 陈丹明, 刘润进. 盐水胁迫下接种 AM 真菌对牡丹幼苗抗氧化酶活性的影响[J]. 园艺学报, 2010, 37(11): 1796-1802.
- [22] 江龙, 李竹玫, 黄建国, 等. AM 真菌对烟苗生长及某些生理指标的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2008, 14 (1): 156-161.
- [23] George E, Jakobsen I, Marschner H. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in uptake of phosphorus and nitrogen from soil[J]. Crit Rev Biotech, 1995, 15 (3/4): 257-270.
- [24] Graham J H, Calvet C, Camprubi A. Water relations of mycorrhizal and phosphorus fertilized nonmycorrhizal cirrus under drought stress[J]. New Phytol, 1987, 105 (2): 411-419.