

接种 AM 真菌改善龙眼幼苗抗寒生理的研究

谢雪曼¹, 王凯渊¹, 余兰¹, 韩刚², 杨治友²,
林钧², 宋明华³, 罗雪峰⁴, 杨晓红¹

1. 西南大学 园艺园林学院/南方山地园艺学教育部重点实验室, 重庆 400715;

2. 重庆市永川区经济作物技术推广站, 重庆 永川 402160;

3. 重庆市涪陵区果品办公室, 重庆 涪陵 400800; 4. 重庆市农业技术推广总站, 重庆 400020

摘要: 以重庆主栽龙眼(*Dimocarpus longan* Lour.) 品种蜀冠和油谭本实生苗为试材, 设置根内球囊霉(*Glomus intraradices*) 接种与未接种处理, 6 个月后, 置于 4 °C 低温分别胁迫 0 d, 2 d, 4 d 和 6 d, 25 °C 为对照, 探讨接种丛枝菌根真菌(AM 真菌) 对低温胁迫下龙眼幼苗生长、渗透调节平衡和保护酶活性等与抗寒性密切相关的生理代谢指标的影响, 为菌根生物学技术在龙眼抗寒性育苗中的应用提供理论依据。结果表明: 低温胁迫下龙眼苗的菌根侵染率、菌根依赖性、干质量、叶片相对含水量和 SOD 等指标均低于常温处理, 可溶性糖、可溶性蛋白、MDA 质量分数、相对电导率、POD 和 CAT 均高于常温处理; 但不论低温还是常温处理, 菌根龙眼苗的菌根依赖性、干质量、叶片相对含水量、可溶性糖、可溶性蛋白、SOD、POD 和 CAT 等指标均显著高于非菌根苗, MDA 质量分数和相对电导率均显著低于非菌根苗。低温胁迫条件下接种 AM 真菌对蜀冠实生苗叶片可溶性蛋白, POD 和 CAT 以及对油谭本实生苗地下部干质量有显著影响, 说明 AM 真菌通过促进龙眼生长, 改善叶片的水分状况, 增强保水能力, 提高叶片相对含水量、渗透调节物质质量分数及其 SOD, POD 和 CAT 等酶系统活力, 降低 MDA 质量分数和相对电导率, 从而有效地减缓了低温造成的伤害, 提高了龙眼的抗寒性。研究结果可为龙眼菌根化抗寒性育苗提供理论依据。

关键词: 龙眼; AM 真菌; 耐寒性; 渗透调节平衡; 抗氧化酶

中图分类号: S667.1

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2023)02-0076-10

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Inoculation of AM Fungi Improves the Cold Resistance Physiology of Longan Seedlings

XIE Xueman¹, WANG Kaiyuan¹, YU Lan¹, HAN Gang²,
YANG Zhiyou², LIN Jun², SONG Minghua³,
LUO Xuefeng⁴, YANG Xiaohong¹

收稿日期: 2021-07-05

基金项目: 重庆市社会事业与民生保障科技创新专项(cstc2017shms-zdyfX0016); 重庆市技术创新与应用发展专项(cstc2019jcsx-gksbX0119)。

作者简介: 谢雪曼, 硕士研究生, 主要从事植物生物学与生物技术的研究。

通信作者: 杨晓红, 教授, 博士研究生导师。

1. College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University/Key Laboratory of Horticulture Science for Southern Mountainous Regions, Ministry of Education, Chongqing 400715, China;
2. Economic Crop Technology Extension Station of Yongchuan District, Yongchuan Chongqing 402160, China;
3. Fruit Office of Chongqing Fuling District, Fuling Chongqing 400800, China;
4. Chongqing Municipal Agricultural Technology Extension Station, Chongqing 400020, China

Abstract: The seedlings of Shuguan and Youtanben, the main *Dimocarpus longan* varieties in Chongqing, were used as the test materials inoculated with *Glomus intraradices*, and uninoculated seedlings were used as control. After 6 months, the longan seedlings were stressed at 4 °C for 0 d, 2 d, 4 d and 6 d, respectively. The control plants were kept at 25 °C. The effects of AM fungi inoculation under low temperature stress on the physiological metabolic indexes of growth, osmotic balance and protective enzyme activities of longan seedling, which are closely related to cold resistance, were discussed in order to provide a theoretical basis for the application of mycorrhizal biotechnology in the cold-resistant breeding seedlings of longan. The experimental results showed that the mycorrhizal infection rate, mycorrhizal dependence, dry weight, leaf relative water content and SOD of longan seedlings under low temperature stress were lower than those under normal temperature treatment, while soluble sugar, soluble protein, MDA content, relative water content, POD and CAT were higher than those under normal temperature treatment. However, regardless the temperature treatments, the mycorrhizal dependence, dry weight, the relative water content, soluble sugar and soluble protein content, SOD, POD and CAT enzymatic activity of leaves of mycorrhizal longan seedlings were significantly higher than those of non-mycorrhizal seedlings, but MDA content and relative conductivity were significantly lower than those of non-mycorrhizal seedlings. The AM fungi inoculation had significant effects on the soluble protein, POD and CAT of the Shuguan and the dry weight of the root of the Youtanben under cold stress. The research results indicated that inoculation of AM fungi can effectively alleviate the damage of low temperature by ways of promoting growth, the water absorption, water retention capacity, relative water content, osmotic regulators and activities of SOD, POD and CAT enzymes, and meanwhile reducing the MDA content and relative water content of leaves. More precisely, the AM fungi inoculation can effectively reduce the damage caused by low temperature stress to longan seedlings, which means the cold resistance of longan seedlings was improved markedly. The research results provide a theoretical basis for mycorrhizal cold-resistant growing seedlings of longan.

Key words: *Dimocarpus longan*; arbuscular mycorrhizal fungi; cold tolerance mechanism; osmotic adjustment balance; antioxidant enzyme

龙眼(*Dimocarpus longan* Lour.)是原产于中国南部以及越南北部的典型亚热带果树,在中国已有 2000 余年的种植历史.重庆作为中国最北缘的晚熟龙眼种植区,所收获的龙眼在 9 月上市,可满足市场的错季需求.然而,重庆冬季偶有极端低温的发生,成为威胁北缘地区晚熟龙眼生产的气候因素之一^[1-2].

丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AM 真菌)是农业生态系统中意义非凡的一类菌根真菌,它能够通过不同方式和途径影响多种植物的代谢过程^[3-5].近年来的研究证实,接种摩西球囊霉(*Glomus mosseae*)和地表球囊霉(*Glomus versiforme*)能显著提高低温(15~5 °C)胁迫下彩叶草(*Plectranthus scutellarioides* L.)叶片保护酶活性和渗透调节物质质量分数,降低丙二醛(MDA)质量分数和膜透性^[6].一些学者^[7-9]观察到接种 AM 真菌能够改善低温胁迫下玉米(*Zea mays* L.)幼苗的生长,提高叶片可溶性糖质量分数,进而增强幼苗的抗寒能力.重庆冬季偶见有低温(4 °C)寒害,持续一般 4 d 左右,这对起源于热带亚热带的龙眼来说可能是致命伤害.基于生产实际和科学理论探索的需要,以重庆主栽龙眼品种蜀冠和油谭

本实生苗作为试验材料,接种根内球囊霉(*Glomus intraradices*)菌剂,模拟重庆偶见的低温寒害环境,在先行梯度降温锻炼 12 d 后,再分别在 4 ℃ 进行正式低温胁迫,探索低温胁迫下接种 AM 真菌对龙眼幼苗渗透调节平衡和保护酶活性等与抗寒性密切相关的生理代谢特征的影响,为菌根生物学技术在龙眼抗寒性育苗中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

植物材料:龙眼(*Dimocarpus longan* Lour.)品种油谭本和蜀冠的实生苗。

AM 真菌材料:根内球囊霉(*Glomus intraradices*),购自美国国际菌种保存中心(<http://www.atcc.org/>)。

基质材料:按照菜园土、基质与河沙的比例 5:3:1 配制。其 pH 值为 7.0,有机质 20.1 mg/kg,全氮 1.4 mg/kg,全磷 0.513 mg/kg,全钾 27.0 mg/kg,交换性钙 6.38 mg/kg,碱解氮 111 mg/kg,速效钾 350 mg/kg,有效磷 48 mg/kg,有效铜 0.53 mg/kg,有效锌 0.4 mg/kg,有效铁 2.66 mg/kg,有效锰 26.4 mg/kg,有效钼 0.203 mg/kg,有效硫 105 mg/kg。在 121 ℃,0.05 MPa 下高压蒸汽灭菌 2 h 备用。

营养液:改良的 Hoagland 营养液,每隔 15 d 施加 25% 的营养液。

营养钵:育苗塑料营养钵(上、下底直径和高分别为 20, 18, 15 cm),用 35%~40% 的甲醛溶液浸泡 20 min,自然晾干,之后用 75% 的酒精擦拭消毒待用。

1.2 试验设计

2018 年 12 月,由重庆市永川区经济作物技术推广站提供成熟健康的龙眼蜀冠和油谭本新鲜果实,取出种子进行表面消毒,无菌水浸泡 4~7 d,待种皮裂口后,置于垫有 2~3 层湿润滤纸的无菌催芽系统中,25 ℃ 催芽 3~4 d。催芽后的种子播种于装有 2/3 灭菌基质的营养钵中,出苗后每钵留 4 株,两种实生苗各 100 钵。25 ℃ 温室内培养 1 个月后,每株苗根际打孔穴接种 9 g AM 真菌菌剂(其中含有 40 个 AM 真菌活性孢子、大量的菌丝和菌根根段),对照每株根际加入 9 g 灭菌后的菌剂。置于 25~28 ℃,12 h 光照/12 h 黑暗温室中培养,每隔 15 d 适量浇灌 25% 改良的灭菌 Hoagland 营养液。180 d 后选取长势基本一致的龙眼菌根苗和非菌根苗各 80 盆(蜀冠和油谭本各 40 盆),于 4 ℃,光强 7 000 lx,光周 12 h 光照/12 h 黑暗,相对湿度 65% 的人工气候培养箱中进行低温胁迫试验,25 ℃ 为对照。正式胁迫前,低温胁迫苗置于人工气候培养箱中,分别在 20, 15 和 10 ℃ 进行梯度降温锻炼各 4 d,之后以 2 ℃/h 的速率降温至 4 ℃ 后保持恒定。

1.3 测定指标与方法

菌根侵染率:按照改良的方法^[10]对龙眼根样进行固定、透明、染色和制片,在 Motic 数码显微系统中拍照和测量。菌根侵染率(Rm)和菌根依赖性(Md)按照公式进行计算:

$$Rm = (Li/Lo) \times 100\%$$

式中, Li 为侵染根段长度(cm), Lo 为观察根段长度(cm)。

$$Md = (Dm/Du) \times 100\%$$

式中, Dm 为菌根苗干质量(g), Du 为对照苗全株干质量(g)。

干质量(D):将对照和低温胁迫 6 d 后的试验苗从钵中取出,清洗完基质,晾去植株上多余的水分,将枝叶和根系分开,称鲜质量后,75 ℃ 恒温烘干,分别测量地上部和地下部干质量。

低温胁迫后的 0, 2, 4 和 6 d 时取叶片,用称量法测定相对含水量^[11],考马斯亮蓝 G250 法测定可溶性蛋白质量分数^[12],硫酸-苯酚法测定可溶性糖质量分数^[13],硫代巴比妥酸法测定丙二醛质量分数,氮蓝四唑法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性,紫外吸收法测定过氧化氢酶(CAT)活性,愈创木酚氧化法测定过氧化物酶(POD)活性^[14]。

2 结果与分析

2.1 接种 AM 真菌提高了低温胁迫下龙眼菌根侵染率和生物量

由表 1 可知, 未接种 AM 真菌的龙眼处理几乎无菌根侵染, 接种处理龙眼苗则全部被侵染. AM 真菌侵染过程中, 在相应的根部细胞中可以清晰地观察到菌丝结构(图 1), 表明根内球囊霉与龙眼根系能够形成良好的菌根共生关系. 研究发现, 低温胁迫 6 d 时, AM 真菌侵染率较常温呈现下降趋势, 说明低温胁迫抑制 AM 真菌的形成. 此外, 低温胁迫后, 龙眼地上部和地下部干质量及其菌根依赖性均有所下降, 但菌根苗干质量仍显著高于非菌根苗. 接种 AM 真菌在低温胁迫条件下对龙眼根系的侵染率有显著的正效应, 预示植物的吸收能力在低温胁迫下仍能通过 AM 真菌菌丝而得到显著增强, 对减轻低温伤害有积极意义(表 1).

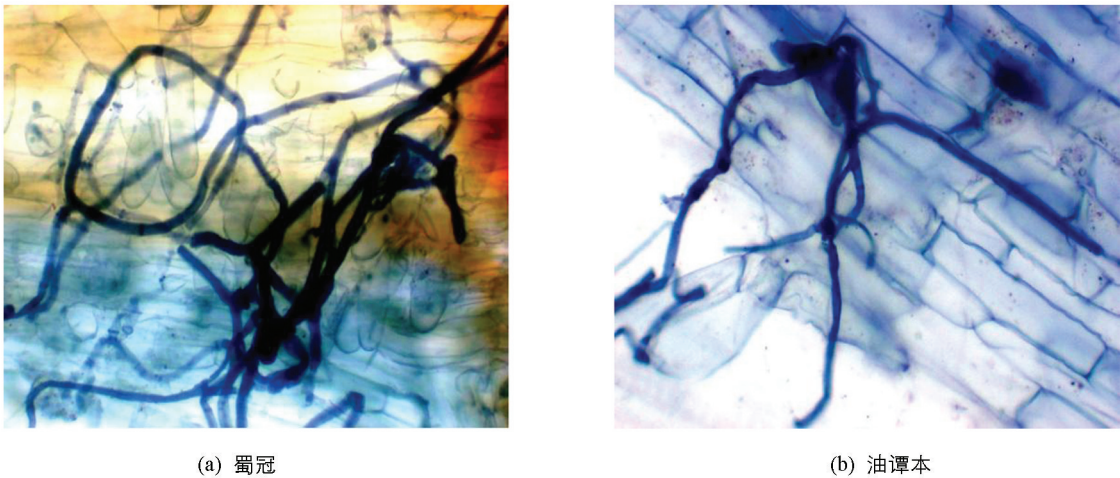


图 1 接种 AM 真菌的龙眼菌根结构(400×)

表 1 接种 AM 真菌对低温胁迫条件下龙眼菌根侵染率和生物量的影响

处理 时间/d	处理 温度/℃	AM 真菌	侵染率/%		地上部干质量/g		地下部干质量/g		菌根依赖性/%	
			蜀冠	油谭本	蜀冠	油谭本	蜀冠	油谭本	蜀冠	油谭本
0	25	接种	83.3a	83.8a	3.3a	3.6a	2.9a	2.8a	147.6b	164.1a
		未接种	0	0	2.4c	2.4c	1.8c	1.5c	—	—
6	25	接种	84.3a	85.6a	3.4a	3.4a	2.9a	2.6b	150.0a	162.1b
		未接种	0	0	2.4c	2.4c	1.8c	1.3c	—	—
	4	接种	78.7b	77.9b	3.2b	3.3b	2.8b	2.5b	146.3c	152.6c
		未接种	0	0	2.1c	2.1c	1.3c	1.0c	—	—
显著性	<i>t</i>		*	*	NS	NS	NS	*	—	—
	接种		***	***	***	*	***	*	—	—
	<i>t</i> ×接种		*	*	NS	NS	NS	*	—	—

注: 小写字母不同表示 $p<0.05$, * 表示 $p<0.05$, ** 表示 $p<0.01$, *** 表示 $p<0.001$, 差异有统计学意义, NS 表示差异无统计学意义.

2.2 接种 AM 真菌维持低温胁迫下龙眼叶片含水量的相对稳定

接种 AM 真菌均提高了两种试验温度条件下龙眼叶片的相对含水量. 低温胁迫下, 叶片相对含水量低, 随胁迫时间的延长呈递减的趋势, 说明低温胁迫使龙眼幼苗吸水较常温条件下困难. 未接种与接种

AM 真菌处理在 25 ℃ 和 4 ℃ 条件下培养 6 d 后, 分别与各自的 0 d 相比较, 接种蜀冠实生苗叶片的相对含水量分别降低 1.3% 和 16.7%, 未接种株实生苗叶片的相对含水量分别降低 3.0% 和 24.7%; 接种油谭本实生苗叶片的相对含水量分别降低 1.5% 和 20.2%, 未接种株实生苗叶片的相对含水量分别降低 1.7% 和 23.2%(表 2)。结果表明, 接种 AM 真菌不仅可以缓解龙眼叶片常温下的失水量, 也可以稳定低温胁迫时蜀冠和油谭本实生苗叶片细胞的持水能力, 改善植株的水分状况, 维持水分的相对平衡, 从而减缓了低温胁迫对龙眼叶内细胞正常代谢的伤害。

表 2 接种 AM 真菌对低温胁迫条件下龙眼叶片相对含水量和渗透调节平衡的影响

处理 时间/d	处理 温度/℃	AM 真菌	相对含水量/%		可溶性糖/(mg · g ⁻¹)		可溶性蛋白/(mg · g ⁻¹)	
			蜀冠	油谭本	蜀冠	油谭本	蜀冠	油谭本
0	25	接种	96.3a	96.8a	35.2c	32.0c	6.3c	5.7c
		未接种	93.7b	89.9b	33.9c	29.9d	5.5d	5.1d
2	25	接种	97.8a	96.6a	35.3c	30.7c	6.3c	5.7c
		未接种	93.0b	88.8b	33.2c	26.6d	5.5d	4.6d
	4	接种	88.9b	86.1b	40.8b	36.8b	6.8b	6.1c
		未接种	82.2c	81.2b	34.3c	33.2c	5.7d	5.8c
4	25	接种	95.4a	94.6a	35.4c	31.9c	6.5c	5.8c
		未接种	91.9b	88.4b	32.8d	28.0d	5.7d	4.9d
	4	接种	83.8c	79.7c	42.8a	38.9a	7.5a	7.2a
		未接种	78.8c	75.1c	36.6c	34.2b	6.4c	6.1c
6	25	接种	95.0a	95.3a	35.0c	32.5c	6.3c	5.7c
		未接种	90.9b	88.4b	30.7d	28.4d	5.4d	4.8d
	4	接种	79.6c	77.2c	44.3a	40.7a	7.1a	6.6b
		未接种	70.6d	69.0d	40.7b	36.2b	6.0c	5.9c
显著性		<i>t</i>	NS	* * *	NS	NS	* * *	* * *
		接种	*	*	NS	NS	* * *	*
		<i>t</i> × 接种	NS	NS	NS	NS	*	*

注: 小写字母不同表示 $p<0.05$, * 表示 $p<0.05$, ** 表示 $p<0.01$, *** 表示 $p<0.001$, 差异有统计学意义, NS 表示差异无统计学意义。

2.3 接种 AM 真菌调控低温胁迫下龙眼幼苗渗透平衡

接种 AM 真菌均显著提高了两种试验温度条件下龙眼叶片可溶性糖和可溶性蛋白的质量分数(表 2)。低温胁迫条件下, 随着胁迫时间的延长可溶性糖质量分数总体呈上升趋势, 可溶性蛋白的质量分数总体呈先上升后下降趋势, 4 d 时达到最大值。同时也观察到, 无论常温处理还是低温胁迫条件下, 菌根(接种 AM 真菌)龙眼苗叶片二者质量分数均高于非菌根(未接种 AM 真菌)龙眼苗。在 25 ℃ 和 4 ℃ 培养条件下培养 6 d, 接种 AM 真菌后蜀冠叶片中可溶性糖质量分数比未接种株分别高出 14.0% 和 8.8%, 可溶性蛋白质量分数比未接种株分别高出 16.7% 和 18.3%; 接种油谭本实生苗叶片中可溶性糖质量分数比未接种株分别高出 14.4% 和 12.4%, 可溶性蛋白质量分数比未接种株分别高出 18.8% 和 11.9%。结果表明, 低温胁迫条件下, 龙眼幼苗叶片渗透调节紊乱, 可通过接种 AM 真菌使得可溶性糖和可溶性蛋白质量分数迅速上升来弥补低温胁迫导致的代谢失衡, 维持细胞渗透压的相对稳定, 从而提高植株的抗逆性。蜀冠叶片可溶性糖和可溶性蛋白质量分数要高于油谭本, 更有利于降低细胞渗透势, 对低温逆境有更强的适

应性. 因此认为, 低温胁迫条件下接种 AM 真菌可维持两龙眼品种实生苗细胞的膜脂稳定性, 调节渗透平衡, 减轻低温胁迫对龙眼的伤害.

接种 AM 真菌显著降低了两种试验温度条件下龙眼叶片的 MDA 质量分数和相对电导率(表 3). 低温胁迫条件下, 随胁迫时间的延长(2, 4 和 6 d), 龙眼幼苗叶片 MDA 质量分数和相对电导率总体呈上升趋势; 同时也观察到, 菌根龙眼苗的 MDA 质量分数和相对电导率均低于同级温度条件下的非菌根苗. 在 25 ℃和 4 ℃条件下培养 6 d, 接种 AM 真菌后蜀冠实生苗的 MDA 质量分数、相对电导率分别比未接种株低 15.6%, 23.3%和 6.8%, 12.3%; 接种株油谭本实生苗的 MDA 质量分数、相对电导率分别比未接种株低 22.6%, 10.2%和 14.0%, 13.3%(表 3). 结果表明, 低温胁迫使龙眼细胞膜过氧化程度加剧, 但已经接种过 AM 真菌的幼苗能降低叶片 MDA 质量分数和相对电导率, 从而减缓逆境对龙眼幼苗细胞脂膜透性的伤害, 进而提高植物的抗逆性. 因此认为, 接种 AM 真菌可维持两个龙眼品种在遇低温胁迫时细胞膜的相对稳定性, 减轻低温胁迫对龙眼的伤害.

表 3 低温胁迫条件下接种 AM 真菌对龙眼叶片相对电导率和抗氧化酶活性的影响												
处理 时间/d	处理 温度/℃	AM 真菌	MDA/($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$)		相对电导率/%		SOD/($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)		POD/($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)		CAT/($\text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$)	
			蜀冠	油谭本	蜀冠	油谭本	蜀冠	油谭本	蜀冠	油谭本	蜀冠	油谭本
0	25	接种	2.8d	2.6d	0.36e	0.51e	324.3b	263.7c	31.3d	33.0d	10.1d	12.9d
		未接种	3.3c	3.2c	0.43d	0.58d	296.4c	250.1d	24.4e	27.0e	7.1e	8.5e
2	25	接种	2.7d	2.6d	0.37e	0.53e	317.6b	269.0c	30.0d	32.0d	9.9d	12.1d
		未接种	3.3c	3.2c	0.48d	0.58d	285.1c	247.8d	22.5e	26.7e	7.9e	8.8e
	4	接种	3.6c	2.7d	0.48d	0.60d	343.9b	323.4a	63.3b	45.7b	17.2b	23.0b
		未接种	3.9b	4.1b	0.55c	0.67c	312.9b	294.1b	45.3c	42.5c	11.3c	13.5d
4	25	接种	2.7d	2.5d	0.34e	0.51e	317.1b	268.4c	30.2d	31.3d	9.3d	13.8d
		未接种	3.3c	3.1c	0.43d	0.57d	292.9c	247.1d	20.0e	26.8e	6.3e	9.0e
	4	接种	3.6c	4.1b	0.61c	0.68c	372.9a	340.0a	70.0a	55.7a	25.3a	28.4a
		未接种	4.1b	4.5b	0.76b	0.81b	324.8b	295.0b	52.0e	48.6b	13.9b	19.5c
6	25	接种	2.7d	2.4d	0.33e	0.53e	320.2b	260.5c	29.1d	30.0d	9.5d	13.5d
		未接种	3.2c	3.1c	0.43d	0.59d	290.8c	247.8d	22.2e	26.7e	7.0e	9.9e
	4	接种	4.1b	4.9b	0.71b	0.72c	251.9d	247.7d	57.8b	45.7b	18.2b	20.1c
		未接种	4.4a	5.7a	0.81a	0.83a	237.5e	225.0e	42.8c	41.5c	11.4c	13.9d
显著性		<i>t</i>	* * *	* * *	* * *	* * *	NS	NS	* * *	* *	* * *	* * *
		接种	* * *	NS	NS	*	NS	NS	* * *	* *	* * *	* * *
		<i>t</i> × 接种	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	*	NS

注: 小写字母不同表示 $p<0.05$, * 表示 $p<0.05$, ** 表示 $p<0.01$, *** 表示 $p<0.001$, 差异有统计学意义, NS 表示差异无统计学意义.

2.4 接种 AM 真菌调节低温胁迫下龙眼幼苗抗氧化酶活性

接种 AM 真菌均显著提高了两种试验温度条件下龙眼叶片的 SOD, POD 和 CAT 活性. 低温条件下, 龙眼幼苗叶片 SOD, POD 和 CAT 酶活性随胁迫时间的延长呈先升高后降低的趋势. 接种 AM 真菌后, 菌根龙眼幼苗叶片 SOD, POD 和 CAT 酶活性均显著高于非菌根苗. 在 25 ℃和 4 ℃条件下培养 6 d, 接种株蜀冠实生苗叶片中 SOD, POD, CAT 活性分别比未接种株高出 10.1%, 31.1%, 35.7%和 5.7%, 35.0%, 59.6%; 接种株油谭本实生苗叶片中 SOD, POD, CAT 活性分别比未接种株高出 5.1%, 12.4%, 36.4%和 10.1%, 10.1%, 44.6%(表 3). 结果表明, 接种 AM 真菌都能显著提高龙眼叶片的抗氧化酶活性, 尤其

是在低温胁迫时,接种 AM 真菌能通过抑制叶片保护酶活性来提高龙眼对抗氧化酶活性的调节能力,减缓低温逆境造成的伤害,有效提高植物的抗寒能力.蜀冠叶片 SOD 活性较油谭本更高,更有利于清除过氧化物,降低活性氧对植物的损伤,提高植物对低温逆境的适应性.

2.5 抗性指标间的相关性分析

分别对蜀冠和油谭本实生苗进行 9 个抗性指标的相关性分析得到相关系数矩阵(表 4).结果表明,低温胁迫后,蜀冠菌根侵染率与总干质量间,相对电导率与 MDA 间,可溶性蛋白与 POD, CAT 间,可溶性糖与 SOD 间,POD 与 CAT 间呈极显著正相关.相对电导率与可溶性蛋白,POD 间,MDA 与可溶性蛋白,POD 间呈显著正相关.相对含水量与相对电导率,MDA 间呈极显著负相关;相对含水量与可溶性蛋白,POD 间呈显著负相关(表 4).

油谭本菌根侵染率与总干质量间,相对电导率与 MDA 间,可溶性蛋白与可溶性糖,SOD,POD,CAT 间,可溶性糖与 SOD,POD,CAT 间,POD 与 CAT 间分别呈极显著正相关;相对电导率与可溶性蛋白,POD 间,MDA 与可溶性蛋白,POD 间分别呈显著正相关.相对含水量与相对电导率,可溶性蛋白,MDA,POD 间分别呈极显著负相关(表 4).

相关性分析结果表明:低温胁迫环境中,蜀冠和油谭本实生苗的一些抗寒性生理代谢特征间存在着显著的相关性,因此使用这些相关性生理代谢指标,可以作为蜀冠、油谭本耐低温胁迫能力的重要判定指标.

表 4 蜀冠和油谭本各单项抗性指标的相关系数矩阵

指标	品种	侵染率	总干质量	相对含水量	相对电导率	可溶性蛋白	可溶性糖	MDA	SOD	POD
总干质量	蜀冠	0.999**								
	油谭本	0.950**								
相对含水量	蜀冠	0.326	0.352							
	油谭本	0.281	0.404							
相对电导率	蜀冠	-0.276	-0.304	-0.960**						
	油谭本	-0.302	-0.416	-0.963**						
可溶性蛋白	蜀冠	0.359	0.335	-0.603*	0.613*					
	油谭本	0.410	0.244	-0.683**	0.627*					
可溶性糖	蜀冠	0.399	0.422	0.378	-0.362	0.336				
	油谭本	0.597	0.703	-0.072	-0.026	0.687**				
MDA	蜀冠	-0.373	-0.399	-0.954**	0.950**	0.593*	-0.383			
	油谭本	-0.178	-0.353	-0.946**	0.952**	0.599*	-0.099			
SOD	蜀冠	0.359	0.335	0.378	-0.362	0.336	1.000**	-0.383		
	油谭本	0.669	0.552	-0.072	-0.026	0.687**	1.000**	-0.099		
POD	蜀冠	0.399	0.422	-0.603*	0.613*	1.000**	0.336	0.593*	0.336	
	油谭本	0.597	0.703	-0.683**	0.627*	1.000**	0.687**	0.599*	0.687**	
CAT	蜀冠	0.532	0.513	-0.454	0.493	0.948**	0.422	0.427	0.422	0.948**
	油谭本	0.410	0.244	-0.456	0.365	0.922**	0.780**	0.327	0.780**	0.922**

注: * 代表 $p<0.05$, ** 代表 $p<0.01$, 差异有统计学意义.

3 讨论

菌根效应能否发挥取决于AM真菌与宿主之间的亲和力,侵染率能够表明真菌对根皮层的感染情况,是AM真菌发挥效力的物质基础^[15]。姚青等^[16]在接种AM真菌对龙眼实生苗营养生长与矿质营养的影响中发现,石硖接种地地球囊霉(*Glomus versiforme*)6个月后,其根系侵染率达38.9%。本试验对蜀冠和油谭本接种根内球囊霉,根系侵染率为77.9%~85.6%(表1),说明龙眼形成菌根具有普遍性。低温胁迫条件下,AM真菌侵染率和干质量有所下降,说明低温胁迫抑制了菌丝的生长和入侵,进而降低了菌根的侵染率,吸收能力降低,干质量也随之下降。但常温接种AM真菌后,菌根侵染率提高,吸收能力增强,促进了龙眼苗的生长,增加了干物质积累,从而提高了龙眼幼苗的抗寒性。

植物细胞内相对含水量与植物的代谢强度、生长速度及其抗性强弱密切联系^[17]。在低温胁迫下植物通常会通过降低叶片的含水量,从而提高细胞液浓度以降低冰点来抵御低温对自身的影响^[18]。本试验研究显示,无论接种或未接种,低温处理2 d时,叶片的相对含水量较常温没有显著的变化,说明2 d的低温胁迫对龙眼幼苗影响不大,处理4 d时叶片相对含水量显著下降,可能是由于植物为了在逆境中生存,进而通过提高细胞液的浓度来抵御低温对自身的伤害。无论是常温或是低温,相比未接种苗,接种AM真菌后,龙眼苗叶片相对含水量提高。这可能是由于低温胁迫下AM真菌能够通过菌丝利用根系无法利用的土壤水分来促进龙眼对水分的吸收,改善植株的水分状况,降低冷害的临界温度,从而提高植株的抗寒性。

可溶性蛋白和可溶性糖作为低温胁迫下的重要渗透调节物质,可作为衡量植物抗寒性的重要指标。本试验研究发现,无论接种或未接种,对比常温,低温胁迫显著增加了龙眼叶片的可溶性糖与可溶性蛋白的质量分数;无论常温或低温处理,对比未接种处理,接种AM真菌均能提高龙眼叶片中可溶性蛋白和可溶性糖的质量分数。这与其他植物的研究结果相呼应^[19-21]。可溶性糖质量分数持续上升的原因可能有2个方面:一是由于较低的温度胁迫导致细胞呼吸减弱致使消耗降低,同时迫使叶片淀粉大量水解,提高细胞质的浓度,从而有效的抵抗冷害。孙存华等^[22]关于低温(0℃, -5℃, -10℃, -15℃, -20℃, -25℃)对香樟膜脂过氧化和保护酶活性的影响以及姚远等^[23]关于低温胁迫(10℃)对木薯幼苗叶片转化酶及可溶性糖质量分数的影响研究也印证了此观点;二是因为菌根形成后影响低温胁迫下植物的生理活动、促进细胞内渗透调节物质的积累,从而提高龙眼植株的抗低温能力。

大量研究表明:由逆境导致的活性氧积累及其引起的氧化胁迫是植物受冷害胁迫的重要原因^[24, 25],因此,调节活性氧的产生和清除之间的平衡对于植物生长代谢平衡的维持以及对环境胁迫的适应至关重要。SOD, POD和CAT作为活性氧清除剂,在活性氧清除系统中扮演着重要的角色。徐康^[26]在低温胁迫条件下对茶梅(*Camellia sasanqua* Thunb)的研究发现,茶梅叶片内抗氧化酶活性随低温胁迫(4℃, -10℃)时间的延长呈现出先升高后降低的变化规律;而孟艳琼等^[27]对低温胁迫下6种藤本植物的研究发现,不同低温胁迫(5℃, -5℃, -10℃和-20℃)条件下,6种藤本植物的SOD活性和CAT活性均显著升高;李晶等^[28]对红松(*Pinus koraiensis* Sieb)幼苗研究发现,低温胁迫下(4℃),SOD, POD及其CAT的活性均逐渐下降。本试验研究发现,无论接种或未接种,对比常温,在0 d, 2 d, 4 d和6 d胁迫期间内,随着低温胁迫时间的延长,龙眼叶片中SOD, POD和CAT活性均表现出先升高后降低的趋势。在低温胁迫初期抗氧化酶活性增加有助于清除低温造成的龙眼细胞内的自由基积累,进而保护龙眼的细胞膜系统;后期抗氧化酶活性随着低温胁迫时间的延长急剧下降,可能是由于低温对植物造成的伤害最终打破了其体内的代谢平衡所致。这与前人研究结果有相似之处也有不同之处,不同植物中,各抗氧化酶类对低温胁迫的响应不同可能是因为它们对逆境的耐性机制不同,也可能和植物种类、大小及培养温度有关。无论常温或低温处理,对比未接种处理,接种AM真菌均显著提高了SOD, POD和CAT活性,说明低温胁迫条件下接种AM真菌可以通过显著诱导SOD, POD和CAT活性来减轻膜脂过氧化伤害以缓解低温对植物造成的影

响,从而提高植物的抗寒性。

研究发现细胞内自由基代谢平衡伴随着低温冷害的延续最终会被破坏,将更有利于自由基的产生,从而引起和加剧膜脂过氧化的作用程度,作为膜脂过氧化最终产物的 MDA 随之将会增多^[29]。另外,植物细胞质膜透性会增大,随着向胞外电解质的大量渗漏,相对电导率也会相应增大^[30]。本试验研究显示,无论接种或未接种,对比常温,低温胁迫显著增加了龙眼叶片的 MDA 质量分数和相对电导率;无论常温或低温处理,菌根龙眼苗 MDA 质量分数和相对电导率显著低于非菌根苗,这可能是由于接种 AM 真菌上调了 SOD, POD 和 CAT 活性,导致植物细胞内活性氧自由基清除能力有所提高,平衡了细胞内自由基的产生与清除,降低了膜脂过氧化作用,最终导致了其质量分数的降低,缓解了低温导致的细胞膜损伤。对其他植物的研究也证明了 AM 真菌可通过提高逆境中植物的抗氧化酶活性来降低 MDA 质量分数,缓解逆境造成的活性氧紊乱^[31]。

综合多项评价指标测定结果与分析认为,蜀冠和油谭本的抗寒性都较强,其叶片可以抵御 4℃ 低温 4 d 左右的胁迫。相同管理水平条件下,接种了菌根的蜀冠幼苗抗寒性更佳。

4 结论

低温胁迫下,龙眼叶片的相对含水量降低,可溶性糖和可溶性蛋白质量分数显著增加, SOD, POD 和 CAT 活性先升高后降低,MDA 质量分数与相对电导率显著增加。与未接种 AM 真菌的龙眼幼苗相比,接种了 AM 真菌的龙眼幼苗在低温胁迫下叶片含水量上升,可溶性糖和可溶性蛋白质量分数升高, SOD, POD 和 CAT 活性显著提高,MDA 质量分数和相对电导率则显著低于未接种苗。综上,本研究认为龙眼幼苗接种 AM 真菌能改善龙眼叶片的水分吸收状态,提升渗透调节物质和抗氧化系统的活力,降低 MDA 质量分数和缓解电解质渗出,提升幼苗在低温胁迫下的抗寒能力。

参考文献:

- [1] 马若寒,谢雪曼,肖若余,等. 重庆主栽龙眼品种果实品质研究 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2021, 43(7): 52-60.
- [2] 杨治友,王琴. 重庆市永川区晚熟龙眼冬季防冻技术试验探索 [J]. 南方农业, 2016, 10 (19): 22-24.
- [3] CHEN Y Y, HU C Y, XIAO J X. Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on the Growth and Zinc Uptake of Trifoliate Orange (*Poncirus Trifoliata*) Seedlings Grown in Low-Zinc Soil [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2017, 40 (3): 324-331.
- [4] HAZZOUMI Z, MOUSTAKIME Y, ELHARCHLI E H, et al. Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) and Water Stress on Growth, Phenolic Compounds, Glandular Hairs, and Yield of Essential Oil in Basil (*Ocimum gratissimum* L.) [J]. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2015, 2 (1): 1-11.
- [5] IBIANG Y B, INNAMI H, SAKAMOTO K. Effect of Excess Zinc and Arbuscular Mycorrhizal Fungus on Bioproduction and Trace Element Nutrition of Tomato (*Solanum lycopersicum* L. Cv. Micro-Tom) [J]. *Soil Science & Plant Nutrition*, 2018, (4): 1-10.
- [6] 郭绍霞,马颖,李敏. 丛枝菌根真菌对彩叶草耐寒性的影响 [J]. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2009, 26(3): 174-176, 180.
- [7] 陈笑莹,宋凤斌,朱先灿,等. 低温胁迫下丛枝菌根真菌对玉米幼苗形态、生长和光合的影响 [J]. 华北农学报, 2014, 29(B12): 155-161.
- [8] ZHU X C, SONG F B, LIU T D, et al. Arbuscular Mycorrhizae Reducing Water Loss in Maize Plants under Low Temperature Stress [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2010, 5(5): 591-593.
- [9] ZHU X C, SONG F B, XU H W. Arbuscular Mycorrhizae Improves Low Temperature Stress in Maize via Alterations in Host Water Status and Photosynthesis [J]. *Plant and Soil*, 2010, 331(1/2): 129-137.
- [10] PHILLIPS J M, HAYMAN D S. Improved Procedures for Cleaning and Staining Parasitic and Vesicular Arbuscular My-

corrhizal Fungi for Rapid Assessment of Infection [J]. Trans Brit Mycol Soc, 1970, 55: 158-160.

[11] 郑炳松. 现代植物生理生化研究技术 [M]. 北京: 气象出版社, 2006.

[12] 叶宝兴, 朱新产. 生物科学基础实验—植物类 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2007.

[13] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2006.

[14] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.

[15] KOIDE R T, MOSSE B. A History of Research on Arbuscular Mycorrhiza [J]. Mycorrhiza, 2004, 14(3): 145-163.

[16] 姚青, 朱红惠, 陈杰忠. 接种 AM 真菌对龙眼实生苗营养生长与矿质营养的影响 [J]. 热带作物学报, 2005, 26(4): 11-14.

[17] 李合生. 现代植物生理学 [M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2006.

[18] 孙国胜, 邓敏, 李谦盛, 等. 牛耳朵幼苗对低温胁迫的生理响应 [J]. 南方农业学报, 2013, 44(6): 918-923.

[19] 刘春英, 陈大印, 盖树鹏, 等. 高、低温胁迫对牡丹叶片 PSⅡ 功能和生理特性的影响 [J]. 应用生态学报, 2012, 23(1): 133-139.

[20] 许楠, 孙广玉. 低温锻炼后桑树幼苗光合作用和抗氧化酶对冷胁迫的响应 [J]. 应用生态学报, 2009, 20(4): 761-766.

[21] 何丽斯, 汪仁, 孟祥静, 等. 茉莉扦插苗对模拟低温的生理响应 [J]. 西北植物学报, 2010, 30(12): 2451-2458.

[22] 孙存华, 孙存玉, 张亚红, 等. 低温对香樟膜脂过氧化和保护酶活性的影响 [J]. 广东农业科学, 2011, 38(4): 58-60, 65.

[23] 姚远, 闵义, 胡新文, 等. 低温胁迫对木薯幼苗叶片转化酶及可溶性糖质量分数的影响 [J]. 热带作物学报, 2010, 31(4): 556-560.

[24] BAEK K H, SKINNE D Z. Alteration of Antioxidant Enzyme Gene Expression During Cold Acclimation of Near-Isogenic Wheat Lines [J]. Plant Science (Oxford), 2003, 165(6): 1221-1227.

[25] XU S, LI J L, ZHANG X Q, et al. Effects of Heat Acclimation Pretreatment on Changes of Membrane Lipid Peroxidation, Antioxidant Metabolites, and Ultrastructure of Chloroplasts in Two Cool-Season Turfgrass Species under Heat Stress [J]. Environmental & Experimental Botany, 2006, 56 (3): 274-285.

[26] 徐 康. 低温胁迫下茶梅‘小玫瑰’生理生化变化的研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2003.

[27] 孟艳琼, 张令峰, 王雷宏, 等. 低温胁迫对 6 种彩叶藤本植物抗寒性生理指标的影响 [J]. 安徽农业大学学报, 2009, 36(2): 172-177.

[28] 李晶, 阎秀峰, 祖元刚. 低温胁迫下红松幼苗活性氧的产生及保护酶的变化 [J]. 植物学报, 2000, 42 (2): 148-152.

[29] 王瑞, 马凤鸣, 李彩凤, 等. 低温胁迫对玉米幼苗脯氨酸、丙二醛质量分数及电导率的影响 [J]. 东北农业大学学报, 2008, 39(5): 20-23.

[30] 钟杰阳, 张玉莲. 低温对不同杏品种枝条中 MDA 质量分数和电导率的影响 [J]. 天津农业科学, 2013, 19(5): 93-96.

[31] 韩亚楠, 刘润进, 李敏. AM 真菌和 PGPR 菌剂组合对低温胁迫下黄瓜生长及防御酶活性的影响 [J]. 中国蔬菜, 2014, 1 (7): 35-39.

责任编辑 周仁惠