

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

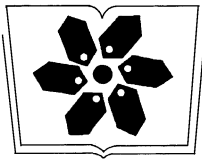
Acta Ecologica Sinica



第 32 卷 第 19 期 Vol.32 No.19 **2012**

中国生态学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 32 卷 第 19 期

2012 年 10 月 (半月刊)

目 次

中国野生东北虎数量监测方法有效性评估	张常智, 张明海, 姜广顺 (5943)
城市居民食物氮消费变化及其环境负荷——以厦门市为例	于 洋, 崔胜辉, 赵胜男, 等 (5953)
珠江口水域夏季小型底栖生物群落结构	袁俏君, 苗素英, 李恒翔, 等 (5962)
2010 年夏季雷州半岛海岸带浮游植物群落结构特征及其与主要环境因子的关系	 (5972)
阿根廷滑柔鱼两个群体间耳石和角质颞的形态差异	龚玉艳, 张才学, 孙省利, 等 (5972)
黄河三角洲滨海草甸与土壤因子的关系	方 舟, 陈新军, 陆化杰, 等 (5986)
盘锦湿地净初级生产力时空分布特征	谭向峰, 杜 宁, 葛秀丽, 等 (5998)
菜豆根瘤菌对土壤钾的活化作用	王莉雯, 卫亚星 (6006)
花生植株和土壤水浸液自毒作用研究及土壤中自毒物质检测	张 亮, 黄建国, 韩玉竹, 等 (6016)
遮荫对金莲花光合特性和叶片解剖特征的影响	黄玉茜, 韩立思, 杨劲峰, 等 (6023)
火干扰对小兴安岭草丛、灌丛沼泽温室气体短期排放的影响	吕晋慧, 王 玄, 冯雁梦, 等 (6033)
古尔班通古特沙漠南部植物多样性及群落分类	顾 韩, 牟长城, 张博文, 等 (6044)
黄土高原樟子松和落叶松与其他树种枯落叶混合分解对土壤的影响	张 荣, 刘 彤 (6056)
长期集约种植对雷竹林土壤氨氧化古菌群落的影响	李 茜, 刘增文, 米彩红 (6067)
H ₂ O ₂ 参与 AM 真菌与烟草共生过程	秦 华, 刘卜榕, 徐秋芳, 等 (6076)
北京山区防护林优势树种分布与环境的的关系	刘洪庆, 车永梅, 赵方贵, 等 (6085)
旱直播条件下强弱化感潜力水稻根际微生物的群落结构	邵方丽, 余新晓, 郑江坤, 等 (6092)
不同森林类型根系分布与土壤性质的关系	熊 君, 林辉锋, 李振方, 等 (6100)
臭氧胁迫下硅对大豆抗氧化系统、生物量及产量的影响	黄 林, 王 峰, 周立江, 等 (6110)
垃圾填埋场渗滤液灌溉对土壤理化特征和草本花卉生长的影响	战丽杰, 郭立月, 宁堂原, 等 (6120)
稻麦轮作系统冬小麦农田耕作措施对氧化亚氮排放的影响	王树芹, 赖 娟, 赵秀兰 (6128)
不同施氮措施对旱作玉米地土壤酶活性及 CO ₂ 排放量的影响	郑建初, 张岳芳, 陈留根, 等 (6138)
北方农牧交错区农业生态系统生产力对气候波动的响应——以准格尔旗为例	张俊丽, 高明博, 温晚霞, 等 (6147)
.....	孙特生, 李 波, 张新时 (6155)
辽宁省能源消费和碳排放与经济增长的关系	康文星, 姚利辉, 何介南, 等 (6168)
基于 FARSITE 模型的丰林自然保护区潜在林火行为空间分布特征	吴志伟, 贺红士, 梁 宇, 等 (6176)
不同后作生境对玉米地天敌的冬季保育作用	田耀加, 梁广文, 曾 玲, 等 (6187)
云南紫胶虫种群数量对地表蚂蚁多样性的影响	卢志兴, 陈又清, 李 巧, 等 (6195)
阿波罗绢蝶种群数量和垂直分布变化及其对气候变暖的响应	于 非, 王 吟, 王绍坤, 等 (6203)
专论与综述	
海水养殖生态系统健康综合评价: 方法与模式	蒲新明, 傅明珠, 王宗灵, 等 (6210)
海草场生态系统及其修复研究进展	潘金华, 江 鑫, 赛 珊, 等 (6223)
水华蓝藻对鱼类的营养毒理学效应	董桂芳, 解绶启, 朱晓鸣, 等 (6233)
环境胁迫对海草非结构性碳水化合物储存和转移的影响	江志坚, 黄小平, 张景平 (6242)
生态免疫学研究进展	徐德立, 王德华 (6251)
研究简报	
喀斯特峰丛洼地不同森林表层土壤有机质的空间变异及成因	宋 敏, 彭晚霞, 邹冬生, 等 (6259)
准噶尔盆地东南缘梭梭种子雨特征	吕朝燕, 张希明, 刘国军, 等 (6270)



封面图说: 岸边的小白鹭——鹭科白鹭属共有 13 种, 其中有大白鹭、中白鹭、白鹭(小白鹭)、黄嘴白鹭等, 体羽皆是全白, 世通称白鹭。夏季的白鹭成鸟繁殖时枕部着生两条狭长而软的矛状羽, 状若双辫, 肩和胸着生蓑羽, 冬季时蓑羽常全部脱落, 白鹭虹膜黄色, 嘴黑色, 脚部黑色, 趾呈黄绿色。小白鹭常常栖息于稻田、沼泽、池塘水边, 以及海岸浅滩的红树林里。白天觅食, 好食小鱼、蛙、虾及昆虫等。繁殖期 3—7 月。繁殖时成群, 常和其他鹭类在一起, 雌雄均参加营巢, 次年常到旧巢处重新修葺使用。

彩图提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201108231232

刘洪庆, 车永梅, 赵方贵, 杨凤玲, 刘新. H_2O_2 参与 AM 真菌与烟草共生过程. 生态学报, 2012, 32(19): 6085-6091.

Liu H Q, Che Y M, Zhao F G, Yang F L, Liu X. Hydrogen peroxide participates symbiosis between AM fungi and tobacco plants. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(19): 6085-6091.

H_2O_2 参与 AM 真菌与烟草共生过程

刘洪庆, 车永梅, 赵方贵, 杨凤玲, 刘新*

(青岛农业大学生命科学学院; 山东省高校植物生物技术重点实验室, 青岛 266109)

摘要:以烟草 (*Nicotiana tabacum*, 品种 CF90NF) 为寄主, 苗期接种丛枝菌根 (AM) 真菌摩西球囊霉 (*Glomus mosseae*, G. m), 测定 G. m 与烟草共生过程中烟草根部 H_2O_2 含量以及多胺氧化酶 (PAO) 和过氧化物酶 (POD) 活性; 研究外源 H_2O_2 对 G. m 侵染烟草的影响以及 H_2O_2 清除剂和合成抑制剂对烟草侧根 H_2O_2 含量及烟草侧根和菌丝中 H_2O_2 荧光强度的影响, 以探究 H_2O_2 在 AM 真菌侵染烟草过程中的作用。结果表明, 接种 G. m 20d 后烟草侧根中出现 H_2O_2 含量的猝发, 一定浓度的外源 H_2O_2 促进 G. m 对烟草的侵染, 而 H_2O_2 清除剂抗坏血酸 (AsA) 显著削弱烟草侧根和菌丝中的 H_2O_2 荧光强度, 降低 G. m 对烟草的侵染率, 表明 H_2O_2 参与 G. m 与烟草共生过程; 在 G. m 与烟草共生过程中, PAO 和 POD 活性显著升高, PAO 抑制剂二氨基十二烷 (DADD) 和 POD 抑制剂水杨羟肟酸 (SHAM) 显著降低烟草侧根中 H_2O_2 荧光强度, 对菌丝中 H_2O_2 荧光强度无显著影响, 表明烟草根部和 G. m 均可产生 H_2O_2 , PAO 和 POD 参与烟草侧根中 H_2O_2 的合成, 菌丝中可能存在其他来源的 H_2O_2 。

关键词: H_2O_2 ; AM 真菌; 烟草; 多胺氧化酶; 过氧化物酶

Hydrogen peroxide participates symbiosis between AM fungi and tobacco plants

LIU Hongqing, CHE Yongmei, ZHAO Fanggui, YANG Fengling, LIU Xin*

Key Lab of Plant Biotechnology in Universities of Shandong, Life Science College, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China

Abstract: Arbuscular mycorrhiza (AM) formed between AM fungi and the vast majority of higher plants is a widely spreading mutualistic symbiosis in the world. It has been proved that AM establishment starts with a chemical signal exchange between host plant roots and the fungi. Hydrogen peroxide (H_2O_2) is an important signal substance, which takes part in interaction among plants and many microorganisms. Does H_2O_2 also participate in the interaction between host plants and AM fungi? And we hypothesized that H_2O_2 may involve in the formation and colonization of AM. The purpose of the present research was to investigate the role of H_2O_2 in colonizing tobacco roots by arbuscular mycorrhizal (AM) fungi. Seedlings of tobacco cultivar CF90NF were inoculated with *Glomus mosseae* (G. m). H_2O_2 contents, the effects of exogenous H_2O_2 on colonization percentage of tobacco by G. m, H_2O_2 scavenger and production inhibitor effects on H_2O_2 contents and fluorescence intensity in tobacco root and fungal hyphae were studied. The results showed that H_2O_2 burst in lateral roots of tobacco 20 days after inoculation, the earlier stage of colonization, at this time, fungal hyphae just began to contact with tobacco root and penetrate root cortical cell, exogenous H_2O_2 increased the colonization percentage of tobacco by G. m, H_2O_2 scavenger ascorbic acid (AsA) had adverse effect, decreased the colonization percentage; Fluorescence assay showed that G. m colonization induced intense H_2O_2 fluorescence in tobacco root, but AsA decreased H_2O_2 fluorescence intensity in tobacco lateral roots, and fungal hyphae. These results indicate that H_2O_2 have positive effect in symbiosis development between AM fungi and tobacco plants; PAO and POD is the main enzymes catalyzing the production

基金项目: 中国烟草总公司山东省公司科技资助项目 (KN158 和 KN167)

收稿日期: 2011-08-23; 修订日期: 2012-02-07

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: liuxin6080@yahoo.com.cn

of H_2O_2 , we estimated the PAO and POD activities in tobacco roots, and the results showed that, when colonized with *G. m*, PAO and POD activities in lateral root of tobacco increased significantly, importantly, treatments with salicylhydroxamic acid (SHAM, POD inhibitor) and 1,12-diaminododecane (DADD, PAO inhibitor) decreased H_2O_2 fluorescence intensity in tobacco lateral roots, but had no significant effects on that in the fungal hyphae. The present study suggests that H_2O_2 may participate in tobacco-AM symbiosis, H_2O_2 be produced both in tobacco root and in fungal hyphae, PAO and POD take part in H_2O_2 production in tobacco root, and there should be other resource of H_2O_2 in AM fungal hyphae. While the interrelationship between H_2O_2 and the other signal substances, and their effects on the development of AM need to be further investigated with molecular techniques.

Key Words: hydrogen peroxide; arbuscular mycorrhizal fungi; *Nicotiana tabacum*; polyamine oxidase; peroxidase

丛枝菌根(arbuscular mycorrhizae, AM)真菌是土壤生态系统的重要成员,为专性活体营养共生菌,能与烟草等绝大多数植物建立互惠共生关系。AM真菌与植物共生可以促进植物对氮、磷和钾等营养元素的吸收,提高植物对盐和干旱等逆境的抵抗能力,进而促进植物体的生长^[1-2]。AM真菌与植物的共生依赖于二者之间复杂的信号传递,有实验证明根系分泌物中的倍半萜类和黄酮类物质在共生过程中起重要作用,可促进真菌的代谢和菌丝分枝,提高其与根系接触的几率^[3]。AM真菌产生的共生信号Myc因子经 Ca^{2+} 信号传递诱导根系发生反应^[4];茉莉酸(jasmonic acid, JA)、脱落酸(abscisic acid, ABA)和乙烯(ethylene, ETH)等植物激素参与AM真菌与植物共生过程的调节^[5-6]。目前,菌根分子生物学研究刚刚充分展开,信号传递网络的多种组分有待进一步研究确定。业已证明 H_2O_2 是植物体内重要的信号分子,参与植物与多种微生物的相互作用^[7-8]。如, H_2O_2 参与根瘤菌与苜蓿等根系共生过程的调控^[9];发现与AM真菌共生的番茄、玉米、烟草和苜蓿等植物根部存在 H_2O_2 ^[10-11],但 H_2O_2 的来源及 H_2O_2 的作用尚不明确。为此,本文拟测定AM真菌与烟草互作过程中烟草侧根中 H_2O_2 含量、外源 H_2O_2 和 H_2O_2 清除剂对AM真菌与烟草共生过程的影响、以及AM真菌与烟草共生过程中 H_2O_2 合成相关酶多胺氧化酶(polyamine oxidase, PAO)和过氧化物酶(peroxidase, POD)活性变化等,以期初步研究 H_2O_2 在AM真菌与烟草共生中的作用及其来源,为AM真菌与植物共生机制的深入阐明提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料和试剂

供试烟草(*Nicotiana tabacum*)品种为CF90NF,由山东临朐烟草有限公司提供。

AM真菌为*Glomus mosseae*(*G. m*),由青岛农业大学菌根技术实验室提供。

AM真菌接种物为经三叶草扩繁后,含培养基质、孢子、菌丝和侵染根段的混合物。

H_2DCF -DA、抗坏血酸(ascorbic acid, AsA)、二苯基碘(diphenylene iodonium, DPI)、水杨羟肟酸(salicylhydroxamic acid, SHAM)、二氨基十二烷(1,12-diaminododecane, DADD)试剂均购于Sigma公司(U. S. A);其余化学试剂均为国产分析纯。

1.2 材料培养及处理

烟草CF90NF种子用0.1% H_2O_2 浸泡10 min,自来水冲洗数次,蒸馏水浸种12 h,播于铺有纱布的培养皿中,蒸馏水浸湿,于25℃温箱(YY0027-90型)内,待胚芽露出后播种于育苗穴盘中,基质为石英砂和蛭石(石英砂和蛭石按质量1:1混合),每育苗穴盘播10粒种子,然后于种子上覆盖一层基质。烟草培养条件为光/暗周期16 h/8 h,温度25℃、光强100—400 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,相对湿度70%。每5d加1/4的Hoagland营养液。

当幼苗长到三叶一心期移栽于盛有基质及10 g AM真菌接种物或10 g灭菌接种物(对照)的花盆(上口径8 cm,高11 cm)中进行以下处理,a:于接种10、20、30、40、50 d观测菌根侵染状况;b:于接种0、5、10、15、

20、25 和 30 d 时取烟草侧根,用蒸馏水将根冲洗干净,测定根中 H_2O_2 含量及 PAO 和 POD 活性;c:分别用蒸馏水、 H_2O_2 、AsA、DPI、SHAM 或 DADD(每 5 d 一次),于预处理 20 d 时用荧光检测法和分光光度法检测侧根中 H_2O_2 含量或菌根侵染率。

以上处理及 1.3 菌丝的收集和处理中 H_2O_2 、AsA、DPI、SHAM、DADD 浓度分别为:0.1%、0.1、0.01、0.01 和 0.5 mmol/L。

1.3 菌丝的收集和处理

按照宋勇春的菌丝收集装置进行菌丝的收集^[12]。装置中外室和根室装有河沙:草炭土:田间土=1:2:2 的混合基质,菌丝室的基质为河沙。将长至三叶一心期的烟草幼苗移栽于菌丝收集装置中根室,加 10 g AM 真菌接种物,分别加 1/4Hoagland 营养液、AsA、DPI、SHAM 或 DADD(每 5 d 一次),于处理后 20 d 收集菌丝用荧光检测法检测侧根中 H_2O_2 含量。期间每周向根室内浇 20 mL/次无磷的 1/4Hoagland 营养液,外室内每 3 d 浇含磷的 1/4Hoagland 营养液 60 mL/次,使菌丝在菌丝室和外室之间的隔膜处相对富集。

1.4 方法

1.4.1 AM 真菌侵染率的测定方法

用酸性品红染色法测定 AM 真菌侵染率^[13]。

1.4.2 荧光检测法检测 H_2O_2 含量

取菌丝或烟草侧根加入 H_2O_2 的特异性荧光探针 $H_2DCF-DA$ (50 $\mu\text{mol/L}$),孵育 0.5 h 后用生理盐水冲洗多次,除去吸附的染料。将菌丝或烟草侧根置于载玻片上,盖好盖玻片,用 488 nm 蓝光激发,在荧光显微镜下观察拍照。

1.4.3 分光光度法测定 H_2O_2 含量及 PAO 和 POD 活性

H_2O_2 含量的测定,具体操作参考 Brennan 和 Frenkel 的方法^[14]。

PAO 活性的测定

取 0.1 g 处理过的叶片于 0.2 mol/L 磷酸缓冲液 (pH6.5) 研磨至匀浆;8000 $\times$ g,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min。上清用于检测游离态 PAO 活性,沉淀用 0.01% TritonX-100 悬浮 3 次,后经 0.2 mol/L 磷酸缓冲液 (pH6.5) 悬浮用于检测与细胞壁结合态 PAO 活性。1.5 mL 反应体系包括:0.2 mol/L 磷酸缓冲液 (pH6.5),100 μL 显色液,1 mg/mL 过氧化物酶,50 mmol/L 的亚精胺。于 25 $^{\circ}\text{C}$,30 min,555 nm 下测定吸光值。其中显色液为:100 mL 0.1mol/L 磷酸缓冲液 (pH6.5),25 μL N,N-二甲基苯胺,10 mg 4-氨基氨基吡啶。

POD 活性测定分别参照刘永军等的实验方法^[15]。

1.5 数据统计方法

测定结果用 DPS 数据处理系统作方差分析。

2 结果与分析

2.1 H_2O_2 参与 AM 真菌与烟草共生过程

2.1.1 AM 真菌侵染烟草过程中烟草侧根 H_2O_2 含量变化

由共生形成过程图谱可以看出,在接种 20 d 时,G. m 菌丝开始和烟草根部接触发生侵染,菌丝开始穿透烟草根细胞的表皮进入根皮层的皮层细胞层(图 1)。

图 2 显示,在测定时间内,未接种 G. m 的烟草侧根 H_2O_2 含量无显著变化,而苗期接种 G. m 的烟草侧根 H_2O_2 含量呈先升高后降低的趋势,在接种 20 d 左右(即 G. m 开始和烟草根部接触并发生侵染时)达最大值 ($P<0.05$),然后趋于和对照基本相同的水平。

2.1.2 AM 真菌侵染烟草过程中烟草侧根和菌丝 H_2O_2 荧光变化

为了进一步证明 H_2O_2 参与 AM 真菌侵染烟草的过程,以 $H_2DCF-DA$ 为 H_2O_2 的特异性荧光探针,检测了接种后 20d 时烟草侧根和菌丝中 H_2O_2 的变化。可以看出,未接种 G. m 的烟草侧根含有一定水平的 H_2O_2 (图 3A),苗期接种 G. m 20d 时的烟草侧根(图 3F)及菌丝(图 3K)中 H_2O_2 含量明显增加,均能够观察到较强的绿

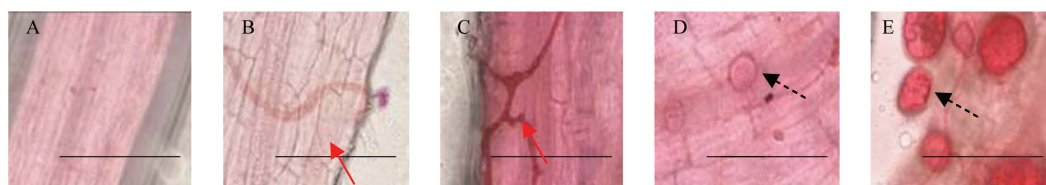
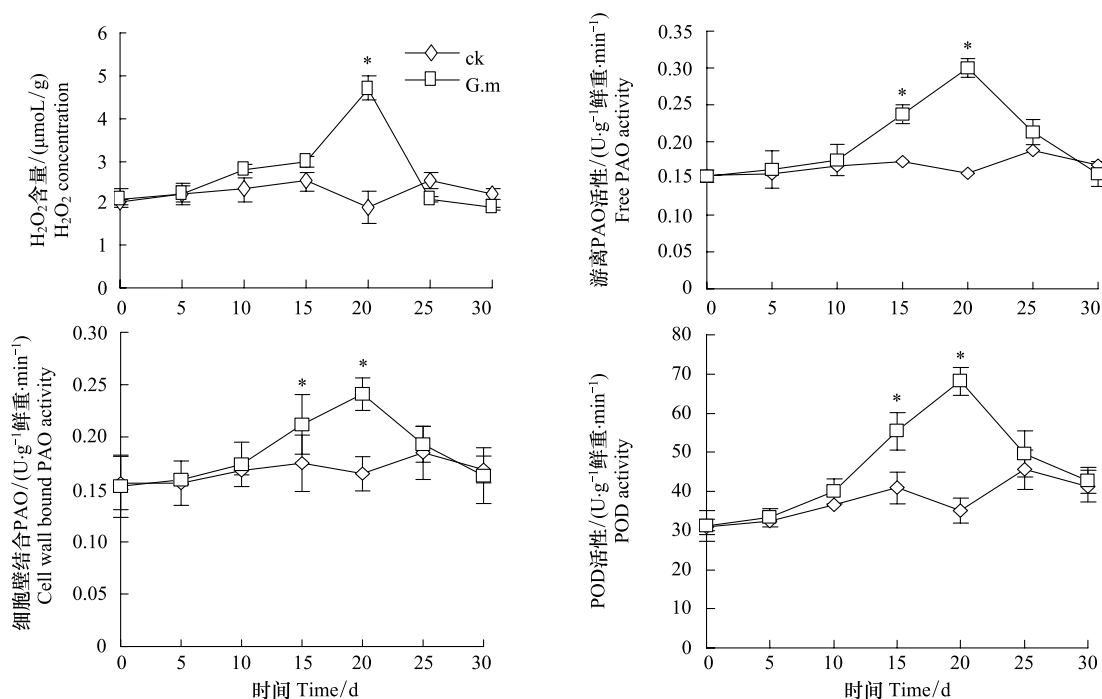


图1 AM真菌与烟草共生的时间进程

Fig. 1 Time course of the symbiosis between AM fungi and tobacco

接种时间 A:10 d; B:20 d; C:30 d; D:40 d; E:50 d(实线箭头指示菌丝,虚线箭头指示泡囊,横线表示50μm)

图2 Gm对烟草侧根中H₂O₂含量、游离PAO、细胞壁结合PAO和POD活性的影响Fig. 2 Effects of *Glomus mosseae* on H₂O₂ content, free and cell wall bound PAO as well as POD activity in lateral roots of tobacco

图中*代表差异达5%显著性水平

色荧光。

2.1.3 外源H₂O₂和H₂O₂清除剂对AM真菌侵染烟草的影响

图4表明,一定浓度的外源H₂O₂处理可以显著提高G. m对烟草的侵染率,H₂O₂清除剂ASA则显著降低了G. m对烟草的侵染,说明H₂O₂是AM真菌与烟草共生过程中的必需因素。

2.2 AM真菌侵染烟草过程中H₂O₂的来源

烟草侧根和菌丝中均存在H₂O₂,那么H₂O₂的来源途径怎样?为此进一步研究了H₂O₂清除剂和合成抑制剂对烟草侧根和菌丝中H₂O₂含量的影响。图3显示,与对照相比,接种G. m的烟草侧根中可以观察到明显的H₂O₂荧光(图3F),经H₂O₂清除剂AsA(图3G)、NADPH氧化酶抑制剂DPI(图3H)、细胞壁过氧化物酶抑制剂SHAM(图3I)或多胺氧化酶抑制剂DADD(图3J)预处理后,均降低了接种G. m所引起的烟草侧根中的H₂O₂荧光强度的增加,其中SHAM和DADD的作用尤为显著。由此说明,AM真菌与烟草共生过程中烟草根系可以产生H₂O₂,且细胞壁过氧化物酶和多胺氧化酶途径可能是H₂O₂的主要来源。H₂O₂清除剂AsA处理后同样使菌丝中的荧光显著减弱(图3L),而H₂O₂合成相关酶抑制剂DPI、SHAM和DADD不能明显改变菌丝中的荧光强度(图3M—O)。由此推测,AM真菌与烟草共生过程中菌丝中可能存在其他来源的H₂O₂。

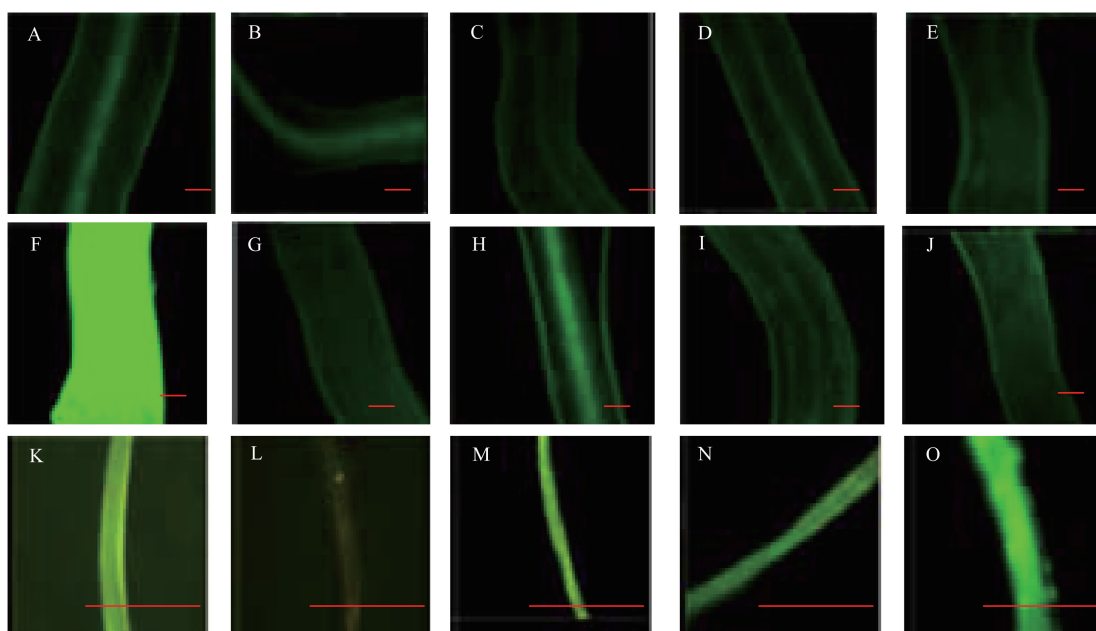


图3 烟草侧根与 *G. m* 菌丝 H_2O_2 含量的 $H_2DCF-DA$ 荧光测定

Fig. 3 Determination of H_2O_2 content in tobacco lateral roots and fungal hyphae staining with $H_2DCF-DA$

A—E: 未接种 *G. m* 的烟草侧根, F—J: 接种 *G. m* 的烟草侧根, K—O 为 *G. m* 菌丝; A、F 和 K: H_2O 预处理, B、G 和 L: AsA 预处理, C、H 和 M: DPI 预处理, D、I 和 N: SHAM 预处理, E、J 和 O: DADD 预处理, 图中横线均代表 $50\mu m$

2.3 AM 真菌与烟草共生过程中烟草侧根中 H_2O_2 的合成途径

2.3.1 AM 真菌侵染烟草过程中烟草侧根中 PAO 和 POD 活性变化

在测定时间段内, 未接种 *G. m* 的烟草侧根中 PAO 和 POD 活性无显著变化, 接种 *G. m* 后烟草侧根中游离和细胞壁 PAO 及 POD (图 2) 活性均呈现先升高后降低的趋势, 于接种 20d 作用达最大值, 该变化趋势与 H_2O_2 含量的变化趋势一致。进一步说明, PAO 和 POD 参与 AM 真菌诱导的烟草侧根中 H_2O_2 合成。

2.3.2 PAO 和 POD 抑制剂对 AM 真菌侵染烟草的影响

图 5 表明, 细胞壁 POD 抑制剂 SHAM 以及 PAO 抑制剂 DADD 均可不同程度的降低烟草侧根中的 H_2O_2 含量及菌根侵染率, 经 SHAM 处理后, H_2O_2 含量及菌根侵染率与对照相比分别降低 32% 和 13%, DADD 预处理后, H_2O_2 含量及菌根侵染率分别降低 25% 和 10%。由此推测, 细胞壁 POD 及 PAO 途径产生的 H_2O_2 参与 AM 真菌侵染烟草过程。

3 讨论

AM 真菌与植物共生关系的形成依赖于二者之间进行的一系列信号传递, 根系分泌物独脚金萌发素内酯、分支因子、 Ca^{2+} 、水杨酸和茉莉酸等信号分子参与多种植物与 AM 真菌的共生过程^[2-3, 16]。 H_2O_2 是植物体内广泛存在的一种信号分子, 在植物生长发育和对环境的应答过程中起重要作用, 本实验分别利用分光光度法和荧光检测法测定了 AM 真菌侵染烟草过程中 H_2O_2 水平的变化, 发现在 *G. m* 菌丝开始和烟草根部接触发生侵染时 (接种 20d 时) H_2O_2 的荧光强度显著增强, 而 H_2O_2 清除剂 AsA 能够显著降低烟草侧根和菌丝中

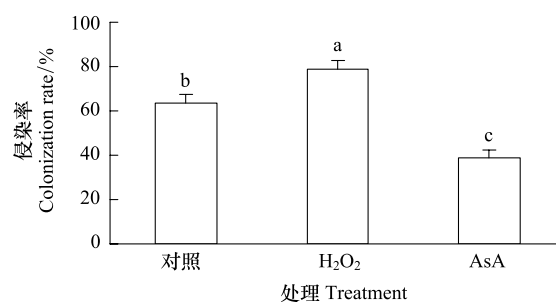


图4 外源 H_2O_2 和 H_2O_2 清除剂 AsA 对 *G. m* 侵染烟草的影响

Fig. 4 Effects of exogenous H_2O_2 and H_2O_2 scavenger ASA on colonization of tobacco by *Glomus mosseae*

图中不同字母代表处理间差异达 5% 显著性水平

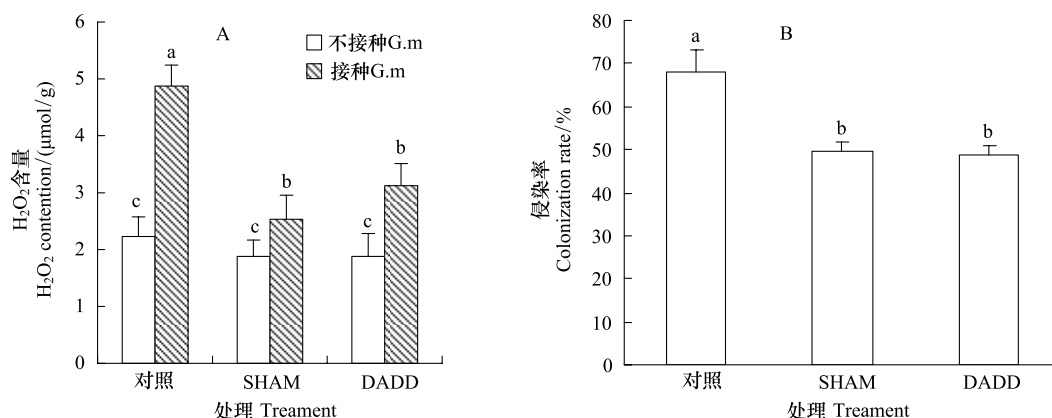


图5 SHAM和DADD对共生过程中烟草侧根H₂O₂含量及菌根侵染率的影响

Fig. 5 Effects of SHAM and DADD on H₂O₂ level and colonization rate of tobacco in the symbiosis process of *Glomus mosseae* with tobacco

H₂O₂ 荧光强度并抑制 AM 真菌对烟草的侵染,表明 H₂O₂ 在 AM 真菌与烟草共生过程中起重要作用,H₂O₂ 可能是 AM 真菌与植物共生信号转导链的重要成分,这与王彬等研究结果较一致^[3]。王彬等发现接种 AM 真菌的番茄根系中 H₂O₂ 和一氧化氮(Nitric oxide, NO)等信号分子含量均有所增加^[2];而又有实验显示,在与 AM 真菌共生的苜蓿和烟草等植物根部 H₂O₂ 存在于肿胀或分枝程度低的菌丝附近,分枝程度高的菌丝附近无 H₂O₂ 积累,认为 H₂O₂ 可能与菌丝降解有关^[9-10]。由此推断,H₂O₂ 在 AM 真菌侵染植物的不同阶段具有不同作用。在共生关系成立前期,H₂O₂ 可能是促进共生的信号分子,共生关系成立后,一定浓度的 H₂O₂ 可能限制菌丝扩展。同时发现,在根瘤菌和豆科植物互作形成根瘤的过程,H₂O₂ 亦可具有信号和生理功能,既可作为成瘤因子的下游信号调控 *rip1*、*Srprx1* 等基因表达促进根瘤形成^[8,17],也参与根瘤衰老解体等过程^[18]。综合看来,无论是在调控植物生长发育还是参与植物与微生物的互作方面,H₂O₂ 都具有双重作用。

业已证明,植物体内 H₂O₂ 主要来源于 NADPH 氧化酶、POD、PAO 及其他途径^[19-21],烟草与 AM 真菌共生过程中 H₂O₂ 的来源如何?用二氢若丹明 123(Dihydrorhodamine123, DHR123)染色法发现与 AM 真菌共生的烟草根部的胞外菌丝及从体外培养的胡萝卜根部分离的菌丝和孢子中存在 H₂O₂,表明 AM 真菌可以产生 H₂O₂;而用 CeCl₃ 染色法的结果表明 H₂O₂ 存在于根细胞质中,认为 H₂O₂ 由根部产生^[10]。本文研究结果显示,AM 真菌与烟草共生过程中烟草侧根的 POD 和 PAO 活性先升高后降低的变化趋势与 H₂O₂ 含量变化一致,SHAM 和 DADD 能够显著降低烟草侧根中 H₂O₂ 含量,削弱烟草侧根 H₂O₂ 荧光强度,但对菌丝中 H₂O₂ 荧光强度无显著影响,这表明烟草根部是产生 H₂O₂ 的重要部位,POD 和 PAO 途径是 H₂O₂ 的重要来源;但亦不能排除 AM 菌丝通过其他途径产生 H₂O₂ 的可能性。

本文研究表明 H₂O₂ 参与 AM 真菌与烟草共生早期的信号传递,烟草根部是产生 H₂O₂ 的重要部位,PAO 和 POD 参与烟草侧根 H₂O₂ 的形成。目前,AM 真菌与植物共生的分子生物学机理研究刚刚起步,各信号传递组分在共生信号传递网络中的位置及相互作用有待进一步明确,信号传递网络有待完善,H₂O₂ 在共生信号传递中的作用机制需进一步明确。分子生物学手段如敲除 H₂O₂ 合成相关酶基因,基因沉默或 iRNA 干扰等的应用将为 H₂O₂ 参与 AM 真菌与烟草共生过程提供遗传学和分子生物学的实验证据。同时,AM 真菌能够通过 Myc 途径或非 Myc 依赖途径诱导根系发生反应^[22],Ca²⁺ 信使是 Sym 信号转导途径的关键组分^[23],而在植物的多种生理过程中 H₂O₂ 与 Ca²⁺ 信使之间存在相互作用^[24-25],那么,Sym 途径在 AM 真菌与植物共生过程中是否起调节作用?其与 H₂O₂ 的关系怎样?尚需通过建立体外共培养技术结合真菌分子生物学技术,探究 AM 真菌与植物体共生过程中其本身发生的生理和分子机制,将会全面掌握 AM 真菌与植物互作的机制。

致谢:感谢青岛农业大学刘润进教授对本文写作的帮助。

References:

- [1] He X L, Gao L, Zhao L L. Effects of AM fungi on the growth and drought resistance of *Seriphidium minchiuense* under water stress. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(4): 1029-1037.
- [2] Wang B, Li H, Xu L J, Li M, Liu R J. Induction of tomato signal substances by arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycosystema*, 2010, 29(4): 561-568.
- [3] Akiyama K, Ogasawara S, Ito S, Hayashi H. Structural requirements of strigolactones for hyphal branching in AM fungi. *Plant and Cell Physiology*. 2010, 51(7):1104-1117.
- [4] Walter M H, Floss D S, Strack D. Apocarotenoids: hormones, mycorrhizal metabolites and aroma volatiles. *Planta*, 2010, 232(1): 1-17.
- [5] Herrera-Medina M J, Tamayo M I, Vierheilig H, Ocampo J A, García-Garrido J M. The jasmonic acid signalling pathway restricts the development of the arbuscular mycorrhizal association in tomato. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2008, 27(3): 221-230.
- [6] Herrera-Medina M J, Steinkellner S, Vierheilig H, Ocampo Bote J A, García Garrido J M. Absciscic acid determines arbuscule development and functionality in the tomato arbuscular mycorrhiza. *New Phytologist*. 2007, 175(3):554-564.
- [7] Deng B L, Deng S, Sun F, Zhang S J, Dong H S. Down-regulation of free riboflavin content induces hydrogen peroxide and a pathogen defense in *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology*. 2011, 77(1/2):185-201.
- [8] Yao L L, Zhou Q, Pei B L, Li Y Z. Hydrogen peroxide modulates the dynamic microtubule cytoskeleton during the defence responses to *Verticillium dahliae* toxins in *Arabidopsis*. *Plant, Cell and Environment*. 2011, 34(9):1586-1598.
- [9] Ramu S K, Peng H M, Cook D R. Nod factor induction of reactive oxygen species production is correlated with expression of the early nodulin gene *rip1* in *Medicago truncatula*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2002, 15(6): 522-528.
- [10] Salzer P, Boller T, Corbière H. Hydrogen peroxide accumulation in *Medicago truncatula* roots colonized by the arbuscular mycorrhiza-forming fungus *Glomus intraradices*. *Planta*, 1999, 208(3): 319-325.
- [11] Fester T, Hause G. Accumulation of reactive oxygen species in arbuscular mycorrhizal roots. *Mycorrhiza*, 2005, 15(5): 373-379.
- [12] Song Y C, Li X L, Feng G. Effect of phosphatase activity on soil organic phosphorus loss in the environment of clover growth. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(7):1130-1135.
- [13] Liu R J, Chen Y L. Mycorrhizology. Beijing: Science Press, 2007: 387-387.
- [14] Brennan T, Frenkel C. Involvement of hydrogen peroxide in the regulation of senescence in pear. *Plant Physiology*, 1977, 59(3): 411-416.
- [15] Liu Y J, Guo S H, Yang X L. Plant Physiological and Biochemical Experimental Techniques. Beijing: China Agricultural Press, 2000: 147-149.
- [16] Ercolein F, Reinhardt D. Successful joint ventures of plants: arbuscular mycorrhiza and beyond. *Trends in Plant Science*, 2011, 16(7):356-362.
- [17] den Herder J, Lievens S, Rombauts S, Holsters M, Goormachtig S. A symbiotic plant peroxidase involved in bacterial invasion of the tropical legume *Sesbania rostrata*. *Plant Physiology*, 2007, 144(2): 717-727.
- [18] Rubio M C, James E K, Clemente M R, Bucciarelli B, Fedorova M, Vance C P, Becana M. Localization of superoxide dismutases and hydrogen peroxide in legume root nodules. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2004, 17(12): 1294-1305.
- [19] Yoda H, Fujimura K, Takahashi H, Munemura I, Uchimiya H, Sano H. Polyamines as a common source of hydrogen peroxide in host- and nonhost hypersensitive response during pathogen infection. *Plant Molecular Biology* 2009, 70(1/2): 103-112.
- [20] Choi H W, Kim Y J, Lee S C, Hong J K, Hwang B K. Hydrogen peroxide generation by the pepper extracellular peroxidase CaPO₂ activates local and systemic cell death and defense response to bacterial pathogens. *Plant Physiology*, 2007, 145(3): 890-904.
- [21] Kim Y H, Kim C Y, Song W K, Park D S, Kwon S Y, Lee H S, Bang J W, Kwak S S. Overexpression of sweetpotato *supa4* peroxidase results in increased hydrogen peroxide production and enhances stress tolerance in tobacco. *Planta*, 2008, 227(4): 867-881.
- [22] Gutjahr C, Banba M, Croset V, An K, Miyao A, An G, Hirochika H, Imaizumi-Anraku H, Paszkowski U. Arbuscular mycorrhiza-specific signaling in rice transcends the common symbiosis signaling pathway. *The Plant Cell online*, 2008, 20(11): 2989-3005.
- [23] Chen C Y, Fan C, Gao M Q, Zhu H Y. Antiquity and function of *CASTOR* and *POLLUX*, the twin ion channel-encoding genes key to the evolution of root symbioses in plants. *Plant Physiology*. 2009, 149(1): 306-317.
- [24] Pei Z M, Murata Y, Benning G, Thomine S, Klüsener B, Allen G J, Grill E, Schroeder J I. Calcium channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signalling in guard cells. *Nature*, 2000, 406(6797): 731-734.
- [25] Grant J J, Loake G J. Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance. *Plant Physiology*, 2000, 124(1): 21-29.

参考文献:

- [1] 贺学礼, 高露, 赵丽莉. 水分胁迫下丛枝菌根 AM 真菌对民勤绢蒿生长与抗旱性的影响. *生态学报*, 2011, 31(4): 1029-1037.
- [2] 王彬, 李辉, 徐丽娟, 李敏, 刘润进. 丛枝菌根真菌对番茄信号物质的诱导效应. *菌物学报*, 2010, 29(4): 561-568.
- [12] 宋勇春, 李晓林, 冯固. 菌根真菌磷酸酶活性对红三叶草生境中土壤有机磷亏缺的影响. *生态学报*, 2001, 21(7):1130-1135.
- [13] 刘润进, 陈应龙. 菌根学. 北京: 科学出版社, 2007: 387-387.
- [15] 刘永军, 郭守华, 杨晓玲. 植物生理生化实验技术. 北京: 中国农业出版社, 2000: 147-149.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 32, No. 19 October, 2012 (Semimonthly)

CONTENTS

Assessment of monitoring methods for population abundance of Amur tiger in Northeast China	5943
..... ZHANG Changzhi, ZHANG Minghai, JIANG Guangshun (5943)	
Changes of residents nitrogen consumption and its environmental loading from food in Xiamen	5953
..... YU Yang, CUI Shenghui, ZHAO Shengnan, et al (5953)	
Analysis of the meiobenthic community in the Pearl River Estuary in summer	5962
..... YUAN Qiaojun, MIAO Suying, LI Hengxiang, et al (5962)	
Community characteristics of phytoplankton in the coastal area of Leizhou Peninsula and their relationships with primary environmental factors in the summer of 2010	5972
..... GONG Yuyan, ZHANG Caixue, SUN Xingli, et al (5972)	
Morphological differences in statolith and beak between two spawning stocks for <i>Illex argentinus</i>	5986
..... FANG Zhou, CHEN Xinjun, LU Huajie, et al (5986)	
Relationships between coastal meadow distribution and soil characteristics in the Yellow River Delta	5998
..... TAN Xiangfeng, DU Ning, GE Xiuli, et al (5998)	
Variation analysis about net primary productivity of the wetland in Panjin region	6006
..... WANG Liwen, WEI Yaxing (6006)	
Mobilization of potassium from Soils by <i>rhizobium phaseoli</i>	6016
..... ZHANG Liang, HUANG Jianguo, HAN Yuzhu, et al (6016)	
Autotoxicity of aqueous extracts from plant, soil of peanut and identification of autotoxic substances in rhizospheric soil	6023
..... HUANG Yuqian, HAN Lisi, YANG Jinfeng, et al (6023)	
Effects of shading on the photosynthetic characteristics and anatomical structure of <i>Trollius chinensis</i> Bunge	6033
..... LV Jinhui, WANG Xuan, FENG Yanmeng, et al (6033)	
Short-term effects of fire disturbance on greenhouse gases emission from sedge and shrubs forested wetland in Lesser Xing'an Mountains, Northeast China	6044
..... GU Han, MU Changcheng, ZHANG Bowen, et al (6044)	
Plant species diversity and community classification in the southern Gurbantunggut Desert	6056
..... ZHANG Rong, LIU Tong (6056)	
Effects of mixing leaf litter from <i>Pinus sylvestris</i> var. <i>mongolica</i> and <i>Larix principis-rupprechtii</i> with that of other trees on soil properties in the Loess Plateau	6067
..... LI Qian, LIU Zengwen, MI Caihong (6067)	
Effects of long-term intensive management on soil ammonia oxidizing archaea community under <i>Phyllostachys praecox</i> stands	6076
..... QIN Hua, LIU Borong, XU Qiufang, et al (6076)	
Hydrogen peroxide participates symbiosis between AM fungi and tobacco plants	6085
..... LIU Hongqing, CHE Yongmei, ZHAO Fanggui, et al (6085)	
Relationships between dominant arbor species distribution and environmental factors of shelter forests in the Beijing mountain area	6092
..... SHAO Fangli, YU Xinxiao, ZHENG Jiangkun, et al (6092)	
Analysis of rhizosphere microbial community structure of weak and strong allelopathic rice varieties under dry paddy field	6100
..... XIONG Jun, LIN Huifeng, LI Zhenfang, et al (6100)	
Root distribution in the different forest types and their relationship to soil properties	6110
..... HUANG Lin, WANG Feng, ZHOU Lijiang, et al (6110)	
Effect of silicon application on antioxidant system, biomass and yield of soybean under ozone pollution	6120
..... ZHAN Lijie, GUO Liye, NING Tangyuan, et al (6120)	
Effect of landfill leachate irrigation on soil physiochemical properties and the growth of two herbaceous flowers	6128
..... WANG Shuqin, LAI Juan, ZHAO Xiulan (6128)	
Nitrous oxide emissions affected by tillage measures in winter wheat under a rice-wheat rotation system	6138
..... ZHENG Jianchu, ZHANG Yuefang, CHEN Liugen, et al (6138)	
Effects of different fertilizers on soil enzyme activities and CO ₂ emission in dry-land of maize	6147
..... ZHANG Junli, GAO Mingbo, WEN Xiaoxia, et al (6147)	
The response of agro-ecosystem productivity to climatic fluctuations in the farming-pastoral ecotone of northern China: a case study in Zhunger County	6155
..... SUN Tesheng, LI Bo, ZHANG Xinshi (6155)	
The relationship between energy consumption and carbon emission with economic growth in Liaoning Province	6168
..... KANG Wenxing, YAO Lihui, HE Jienan, et al (6168)	
Spatial distribution characteristics of potential fire behavior in Fenglin Nature Reserve based on FARSITE Model	6176
..... WU Zhiwei, HE Hongshi, LIANG Yu, et al (6176)	
Chill conservation of natural enemies in maize field with different post-crop habitats	6187
..... TIAN Yaojia, LIANG Guangwen, ZENG Ling, et al (6187)	
Effect of population of <i>Kerria yunnanensis</i> on diversity of ground-dwelling ant	6195
..... LU Zhixing, CHEN Youqing, LI Qiao, et al (6195)	
Response of <i>Parnassius apollo</i> population and vertical distribution to climate warming	6203
..... YU Fei, WANG Han, WANG Shaokun, et al (6203)	
Review and Monograph	
Integrated assessment of marine aquaculture ecosystem health: framework and method	6210
..... PU Xinming, FU Mingzhu, WANG Zongling, et al (6210)	
Seagrass meadow ecosystem and its restoration: a review	6223
..... PAN Jinhua, JIANG Xin, SAI Shan, et al (6223)	
Nutri-toxicological effects of cyanobacteria on fish	6233
..... DONG Guifang, XIE Shouqi, ZHU Xiaoming, et al (6233)	
Effect of environmental stress on non-structural carbohydrates reserves and transfer in seagrasses	6242
..... JIANG Zhijian, HUANG Xiaoping, ZHANG Jingping (6242)	
Advances in ecological immunology	6251
..... XU Deli, WANG Dehua (6251)	
Scientific Note	
The causes of spatial variability of surface soil organic matter in different forests in depressions between karst hills	6259
..... SONG Min, PENG Wanxia, ZOU Dongsheng, et al (6259)	
Characteristics of seed rain of <i>Haloxylon ammodendron</i> in southeastern edge of Junggar Basin	6270
..... LÜ Chaoyan, ZHANG Ximing, LIU Guojun, et al (6270)	

《生态学报》2013 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的生态学专业性高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,300 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

编辑部主任 孔红梅 执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 32 卷 第 19 期 (2012 年 10 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 32 No. 19 (October, 2012)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:1000717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元