

DOI: 10.20103/j.stxb.202312272846

阳雅荧, 毛洁莹, 陈保冬, 王琼, 姜雪茹, 刘玮. 土著 AM 真菌接种对古银杏实生苗生长和生理特性的影响. 生态学报, 2025, 45(3): 1429-1443.

Yang Y Y, Mao J Y, Chen B D, Wang Q, Jiang X R, Liu W. Effect of inoculation with indigenous AM fungi on growth and physiological characteristics of ancient *Ginkgo biloba* seedlings in Shanghai. Acta Ecologica Sinica, 2025, 45(3): 1429-1443.

土著 AM 真菌接种对古银杏实生苗生长和生理特性的影响

阳雅荧^{1,2}, 毛洁莹^{1,3}, 陈保冬⁴, 王 琼^{1,3}, 姜雪茹^{1,3}, 刘 玮^{1,3,*}

1 江西农业大学园林与艺术学院/林学院, 南昌 330045

2 赣州市蔬菜花卉研究所, 赣州 341413

3 保护生物学江西省重点实验室, 南昌 330045

4 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085

摘要: 古树作为百年以上的大树, 是极其珍贵的自然资源, 但在人类社会快速发展所带来的诸多不利影响之下, 生长严重受限。因此对其进行保护和复壮是一项刻不容缓且需长期坚持的重要工作。经过长期的自然选择, 其根际土壤中存在与其生长密切相关并具有独特作用的土著微生物。接种古树根际土壤中的优势土著 AM 真菌或可成为一种新的古树复壮方法。从上海市城区具有 100 年以上树龄的古银杏树根际土壤中成功筛选、扩繁的 2 种土著 AM 真菌菌剂 (近明球囊霉 *Claroideoglomus claroideum* 和摩西斗管囊霉 *Funnelformis mosseae*) 为试验材料, 通过单、双接的应用方式接种至古银杏实生苗中进行盆栽验证试验。研究表明, 接种土著 AM 真菌不仅对古银杏实生苗的表型指标、地上部生长、根系形态、植物养分积累、生物量等生长指标均具有显著的促生效果, 并对实生苗的叶绿素相对含量、光合生理状况、抗氧化酶活性、代谢产物积累等生理指标也产生了有利影响, 使得实生苗的生长情况整体向好, 但不同的土著 AM 真菌对古银杏实生苗的生长过程产生了不同程度的影响。通过隶属模糊函数综合法将不同菌剂对古银杏实生苗的促生效果进行量化并综合排序, 确定双接 (近明球囊霉+摩西斗管囊霉) 是促生古银杏实生苗较好的接种方式。证明了土著 AM 真菌在古树促生复壮方面具有一定的潜力和效果, 后续还将在古银杏树上进行相应的验证试验。研究结果可推动田间土著 AM 真菌的本土化应用, 为古树的保护和复壮提供了新的思路和技术支撑。

关键词: 土著 AM 真菌; 古银杏实生苗; 促生效果

Effect of inoculation with indigenous AM fungi on growth and physiological characteristics of ancient *Ginkgo biloba* seedlings in Shanghai

YANG Yaying^{1,2}, MAO Jieying^{1,3}, CHEN Baodong⁴, WANG Qiong^{1,3}, JIANG Xueru^{1,3}, LIU Wei^{1,3,*}

1 College of Landscape Architecture and Art/College of Forestry, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

2 Ganzhou Vegetable and Flower Research Institute, Ganzhou 341413, China

3 Jiangxi Provincial Key Laboratory of Conservation Biology, Nanchang 330045, China

4 Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

Abstract: As a tree that is more than 100 years old, ancient trees are extremely precious natural resources. However, under the many adverse effects brought about by the rapid development of human society, growth has been severely restricted. Therefore, the protection and rehabilitation of ancient trees is an important task that should not be delayed and should be persisted for a long time. After long-term natural selection, there are indigenous microorganisms in their rhizosphere soil that

基金项目: 江西省“双千计划”项目 (jxsq2018102090); 上海市绿化和市容管理局科技攻关项目 (G230505)

收稿日期: 2023-12-27; **网络出版日期:** 2024-10-28

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: w_liu08@163.com

are closely related to their growth and have unique functions. Inoculating the inter-root soil of ancient trees with dominant indigenous Arbuscular Mycorrhizal (AM) fungi could potentially be a new method for rejuvenating ancient trees. Two indigenous AM fungal agents (*Claroideoglomus claroideum* and *Funneliformis mosseae*) successfully screened and propagated in the rhizosphere soil of ancient *Ginkgo biloba* trees over 100 years old in urban Shanghai were used as test materials, and inoculated into ancient *Ginkgo biloba* seedlings by single and mixed application methods for verification experiments. The results indicate that the inoculation of indigenous AM fungi had a significant growth-promoting effect on the phenotype, aerial part, root morphology, plant nutrient accumulation and biomass of ancient *Ginkgo biloba* seedling. Meanwhile, the study also found that the inoculated treatments positively impacted various physiological indexes, including relative chlorophyll content, photosynthetic physiological condition, antioxidant enzyme activity, and metabolite accumulation in seedlings. As a result, the seedlings experienced overall positive growth. However, the growth process of the ancient *Ginkgo biloba* seedlings was affected to varying degrees by different indigenous AM fungi. Quantification and comprehensive ranking of the growth-promoting effects of different strains of agents on ancient *Ginkgo biloba* seedlings by the affiliative fuzzy function synthesis method. The results showed that mixed inoculation (*Claroideoglomus claroideum* + *Funneliformis mosseae*) was more effective in promoting the growth of ancient *Ginkgo biloba* seedling. This study initially demonstrated the potential and effectiveness of indigenous AM fungi in promoting and rejuvenating ancient trees. It has been initially proved that indigenous AM fungi have certain potential and effect in promoting the growth and rejuvenation of ancient trees, and the corresponding validation test will be carried out on the ancient *Ginkgo biloba* trees subsequently. The results of the study can promote the localised application of indigenous AM fungi in the field and provide new ideas and technical support for the conservation and restoration of ancient trees.

Key Words: indigenous AM fungi; ancient *Ginkgo biloba* seedlings; growth promotion

微生物是土壤中最活跃的组分,也是评价土壤健康的重要指标。丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AM 真菌)作为一种重要的土壤微生物类群,能够与自然界中约 80% 的高等植物(包括多数高大乔木)形成互利共生的菌根系统^[1-3],通过菌丝延伸到根系无法进入的土壤缝隙中吸收矿质养分,传递给宿主植物^[4-5],从而发挥出促进植物生长发育和土壤养分循环的重要作用。从我国洛阳、菏泽栽培的牡丹(*Paeonia suffruticosa*)根际分离筛选出的土著 AM 真菌在提高植株的生物量和抗性上均能产生明显的促进作用^[6]。当与接种外源 AM 真菌相比时,接种土著 AM 真菌能更好地增加三叶赤楠幼苗(*Syzygium grijsii*)的地上部生长量、提高新陈代谢能力和抗性^[7]。从矿区优势植物紫茎泽兰(*Eupatorium adenophorum*)根际筛选的两种土著 AM 真菌,亦能够增加宿主植物的地上、地下部分生物量,显著提高宿主植物对重金属镉(Cd)的富集能力^[8]。

据统计,至 2021 年底,上海市共有古树(100 年以上)和古树后续资源(树龄 80—100 年)2800 余株,其中古树有 83 种 1600 余株,且以古银杏资源最为丰富(500 余株)。古树作为城市中承载历史文化的重要文脉,对于研究城市建设、社会历史进程及园林发展等方面都具有很高的价值^[9]。但在城市发展所致的地下水污染、土壤污染、生态系统退化等“城市病”的影响下^[10],上海市约有 1/3 的银杏古树出现了生长不良的情况^[11],成为了亟需保护和复壮的古树树种之一。银杏(*Ginkgo biloba*)是银杏科银杏属的唯一一种,亦是一种对于菌根共生系统依赖性较高的植物。汤珧华等通过开展古银杏树接种外源内生菌根菌的试验,发现内生菌根菌对促进树体生长、增强土壤肥力等方面具有明显改善作用^[11]。可见,探究更为简单、经济、有效的菌剂来源,对于古银杏的保护和复壮具有重要作用。

在前人对银杏实生苗、嫁接苗^[12]以及泥质海岸人工林中银杏^[13]的研究中,经过解剖与镜检发现根系中含有典型的 AM 真菌侵染结构,由此认为银杏为 AM 真菌宿主植物。目前国内外有关 AM 真菌在银杏上的应用报道相对较少,现已证实 *Glomus mosseae*、*Glomus intraradices* 和 *Glomus versiforme* 3 种外源 AM 真菌可显著促

进银杏幼苗的生长^[14],吴强盛和韦启安还发现在田间自然条件下与盆栽条件下接种外源 *Glomus epigaeum* 后银杏菌根的形态特征类似,且在AM真菌接种后银杏嫁接苗根系的发育要明显比实生苗更好^[12]。但古树根际土著 AM 真菌的在植株上的应用效果至今仍不明确。

鉴于此,本研究利用从上海古银杏树根际土壤中筛选、扩繁的优势土著 AM 真菌菌剂在古银杏实生苗上开展盆栽试验,以验证土著 AM 真菌对古银杏实生苗生长及生理方面的功能性。研究结果可为古银杏根际土著 AM 真菌的本土化应用提供技术支撑,也可古树保护和复壮提供新的思路和技术支撑,有效改善古树的根际生长环境,对古树的可持续利用也能起到一定的推动作用。

1 试验材料与方法

1.1 试验地点概况

本研究在江西农业大学花卉盆景实训基地中的光照培养室中进行。培养条件为恒温 26 ℃,光照 17000 lx,每天光照 10 h,培养时间 120 d。

1.2 供试材料

供试植物:古银杏实生苗(2021 年 9 月下旬收集了树龄约 220 年的上海 0345 号银杏古树的种子并在无菌条件下培养为实生苗备用)。

供试 AM 真菌:本研究选取了位于上海市静安区的 8 株古银杏树,树龄均为 200—250 年间。取样方法为在目标树木滴水线附近按照东西南北 4 个方向各选取 1 个取样点,挖取 30 cm 深度(银杏吸收根主要分布深度)的古银杏根系,然后采用抖落法收集从古银杏根系上抖下的土壤,认定为根际土,将每株树木 4 个方向点的根际土混合作为本树的根际土样品。通过诱导培养和单孢扩繁筛选出了两个优势 AM 菌株:近明球囊霉(*Claroideoglomus claroideum*)、摩西斗管囊霉(*Funneliformis mosseae*)。菌株保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(China General Microbiological Culture Collection Centre, CGMCC),保藏编号为 CGMCC No: 18593 和 No: 40631。AM 真菌孢子密度分别为 60 个/g 土和 15 个/g 土。

供试基质:沸石:河沙:蛭石=1:1:1,移栽前基质用 121 ℃ 高温高压灭菌 30 min。基础理化性质为:pH 7.5、EC 91.8、全氮(TN)0.28 g/kg、全磷(TP)0.47 g/kg 及全钾(TK)11.46 g/kg。

栽培容器:27 cm×18 cm(内径×高)的塑料花盆,种植前用 10%次氯酸钠(NaClO)溶液浸泡消毒 30 min。

1.3 试验设计

挑选长势相同的实生苗(株高 8 cm、茎粗 2.5 mm 左右)进行如下处理:

(1) CK:灭菌基质+灭活近明球囊霉(*C. claroideum*)和灭活摩西斗管囊霉(*F. mosseae*)+银杏实生苗

(2) 处理 1(CC):灭菌基质+近明球囊霉(*C. claroideum*)+银杏实生苗

(3) 处理 2(FM):灭菌基质+摩西斗管囊霉(*F. mosseae*)+银杏实生苗

(4) 处理 3(CC+FM):灭菌基质+近明球囊霉(*C. claroideum*)+摩西斗管囊霉(*F. mosseae*)+银杏实生苗

每个处理 8 个重复,共 32 盆。每盆按照菌剂孢子密度进行换算接种 AM 真菌孢子 600 个,其中 CK 处理加入 300 个 CC 孢子+300 个 FM 孢子,即灭菌菌剂 10 g CC 和 40 g FM,处理 3(CC+FM)加入 CC 和 FM 孢子各 300 个。所用菌剂扩繁时的基质组成、寄主植物、培养条件等均一致,因此可以忽略菌剂的其他养分对植物生长的影响。

1.4 植物生长、代谢指标测定

试验处理后 7 d、30 d、60 d、90 d 和 120 d 时,对古银杏实生苗的地上部分形态、相对叶绿素含量 SPAD 与叶绿素荧光参数等进行测定。试验处理 120 d 后,收获古银杏实生苗,对根系形态、生物量、植株养分含量、抗氧化酶指标与代谢指标等进行测定。

1.4.1 生长指标测定

(1) 株高:用直尺测量从土表至主茎顶端的长度。

(2) 茎粗:用游标卡尺测定实生苗基部(距土表 2 cm)处的茎粗。

(3) 叶片数:采用计数法测定每株实生苗除子叶外的叶片数量。

(4) 叶面积:从每株实生苗上选取大小相似的 3 片叶子,用手机拍摄平铺展开的叶片照片,导入 Image J 软件计算叶片面积。

(5) 冠幅紧密度、开展度、投影面积和叶片健康程度:采用台式植物成像系统 Scanalyzer PL(德国 LemnaTec 公司)对古银杏实生苗进行可见光顶部成像。通过 LemnaGrid 软件建立分析流程(IAC),编辑图像,计算古银杏实生苗地上部分生长相关的冠幅紧密度、开展度、投影面积和叶片健康程度的 4 项形态数据(图 1),采用 LemnaMiner 软件进行像素与实际长度的转换后导出数据^[15-16]。

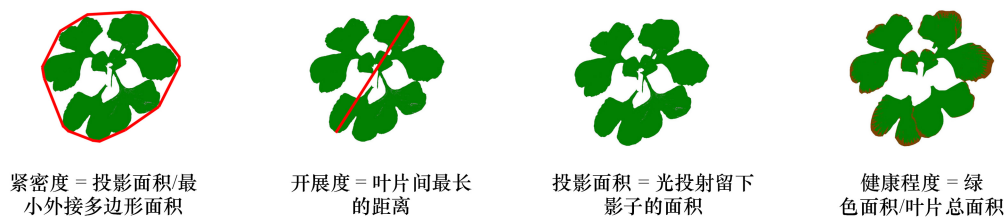


图 1 古银杏实生苗植株冠幅紧密度、开展度、投影面积和叶片健康程度计算方法

Fig.1 Calculation of compactness, caliper length, projection area, leaf health ratio characteristics of ancient *G. biloba* seedling

(6) 相对叶绿素含量 SPAD 与叶绿素荧光参数测定

相对叶绿素含量 SPAD 采用 SPAD-502 Plus 叶绿度仪测定。叶绿素荧光参数采用德国 PAM-2500 调制叶绿素荧光仪测定,对待测叶片进行 20 min 的暗适应后,读取所需叶绿素荧光参数。

(7) 根系形态测定

古银杏实生苗在接种 120 d 后收获,剪除植株地上部,分离根系洗净并置于盛水的扫描盒中用 EPSON V800 根系扫描仪扫描。采用 WinRHIZO 根系分析系统分析总根长、总根表面积、根体积、根系平均直径和根尖数。

(8) 生物量测定

将古银杏实生苗地上部和地下部洗净后,在 105 ℃ 温度下杀青 30 min,之后在 70 ℃ 温度下烘干至恒重,用万分之一天平称量并记录古银杏实生苗的地上部生物量和地下部生物量。

1.4.2 代谢指标测定

(1) 植株养分含量测定

将烘干植物样品研磨成粉末,称取 0.1 g 用 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 法消煮(98% H_2SO_4 , 10% H_2O_2),每个样品设置 4 个重复和空白对照,采用全自动间断化学分析仪测定(SmartChem200)植株全氮(TN)含量,采用钼锑抗比色法测定植株全磷(TP)含量,植株 N、P 积累量采用如下公式计算:

$$\text{养分积累量(g/株)} = \text{生物量} \times 10^{-3} \times (\text{地上部养分含量} + \text{地下部养分含量})$$

(2) 抗氧化酶指标测定

从每株实生苗上采集 4 片成熟叶片,采用苏州科铭公司生产的试剂盒(SOD-2-W、POD-2-Y、CAT-2-Y)进行抗氧化酶指标测定。采用 WST-8 法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性,采用紫外吸收法测定过氧化物酶(POD)活性与过氧化氢酶(CAT)活性。

(3) 可溶性蛋白、可溶性糖、类黄酮测定

可溶性蛋白含量测定:采用考马斯亮蓝 G-250 染色法,从每株实生苗上采集 4 片成熟叶片,称取 0.2 g 鲜叶,加入 3.0 mL 纯水研磨成匀浆,定容至 10.0 mL,在 3000 r/min 转速下离心 10 min,取 1.0 mL 上清液加入 5.0 mL 考马斯亮蓝试剂,摇匀反应 2 min 后在 595 nm 波长下测定吸光度,计算公式如下:

可溶性蛋白含量 (mg/g) = $(C \times V_1) / (V_2 \times W \times 10^3)$

其中, C 为标准曲线上查得的可溶性蛋白含量; V_1 为提取液总体积; W 为样品鲜重; V_2 为测定时加样量。

可溶性糖、类黄酮含量测定: 分别采用苏州科铭公司生产的试剂盒 (型号 KT-2-Y、HTC-1-W), 称取 0.1 g 鲜叶、粉碎烘干的样本 0.02 g 进行样品预处理, 按说明书依次加入试剂测定。

1.4.3 隶属函数模糊综合评价法

应用隶属函数模糊综合评价法^[17]对不同处理银杏实生苗的促生效果进行综合评价, 选出对银杏幼苗生长最佳的 AM 菌剂。采用以下公式算出所测指标的隶属函数值, 并计算每个处理所有指标的隶属函数平均值, 平均值越大, 代表该处理对银杏实生苗的促生效果越强。

$$R(X_i) = (X_i - X_{i\min}) / (X_{i\max} - X_{i\min}) \text{ 和 } R(X_i) = (X_{i\max} - X_i) / (X_{i\max} - X_{i\min})$$

式中, $R(X_i)$ 为各项指标的隶属函数值; X_i 为各项指标的测定值; $X_{i\max}$ 和 $X_{i\min}$ 分别为该项指标的最大值和最小值。

1.5 数据处理

采用 Ps 2020 (Adobe, USA) 处理银杏实生苗照片、Excel 2019 (Microsoft, USA) 整理银杏实生苗所有试验指标及隶属函数模糊综合评价的数据。利用 SPSS 22.0 (IBM, USA) 对数据进行统计分析, 用单因素方差分析和 Duncan 多重比较完成分析 (显著差异 $P < 0.05$, 极显著差异 $P < 0.01$), 获取平均值和标准误差, 在 Origin 2022 pro 完成作图。

2 结果

2.1 古银杏实生苗的地上部分生长变化

不同处理的古银杏实生苗的生长随种植期增加变化明显: 未接 AM 真菌的 CK 处理古银杏实生苗长势最差、叶片逐渐变黄; 而 CC、FM 和 CC+FM 均在 30 d—60 d 内长出新叶, 长势较好 (图 2、图 3)。

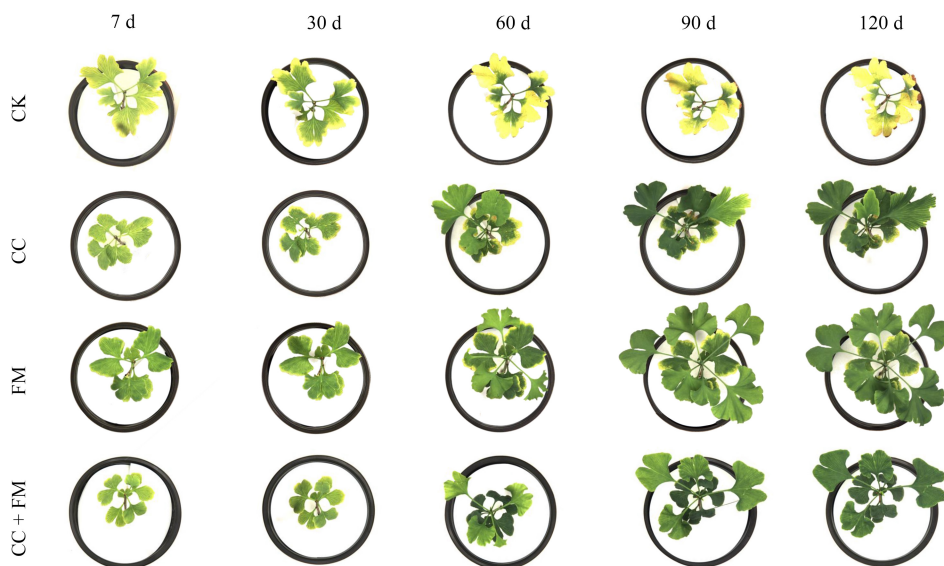


图 2 各时期古银杏实生苗地上部分顶光图

Fig.2 Top light map of aerial part of ancient *G. biloba* seedlings at various periods

CK: 灭菌基质+灭活近明球囊霉和灭活摩西斗管囊霉+银杏实生苗; CC: 灭菌基质+近明球囊霉+银杏实生苗; FM: 灭菌基质+摩西斗管囊霉+银杏实生苗; CC+FM: 灭菌基质+近明球囊霉+摩西斗管囊霉+银杏实生苗

接种土著 AM 真菌对于古银杏实生苗地上部生长的促进作用较为明显 (图 4)。接菌后株高和叶面积较 CK 均呈现上升的趋势, 但无明显差异; 120 d 时 CC+FM 的茎粗已显著高于 CK ($P < 0.05$); 30—60 d, 接种土著 AM 真菌 (CC、FM、CC+FM) 的古银杏实生苗叶片数开始增加, 而 CK 在 120 d 内未发生变化, 并与接菌处理呈



图 3 古银杏实生苗生长 120 d 后的生物量

Fig.3 The biomass of ancient *G. biloba* seedlings after 120 d growth period
编号中的数字代表重复

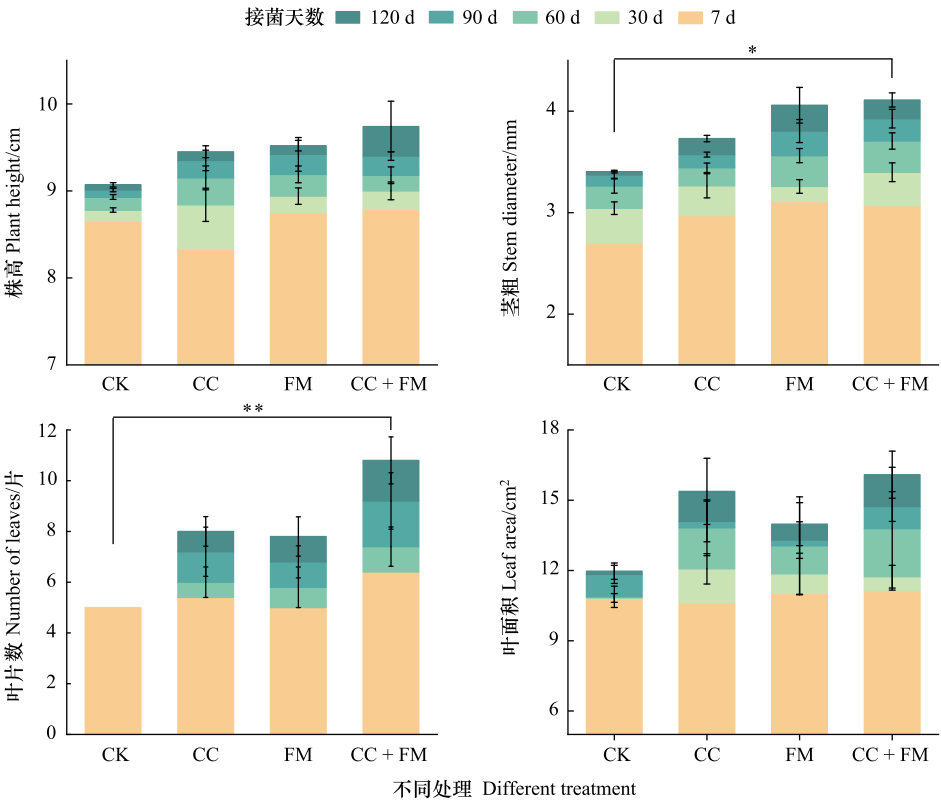


图 4 不同处理古银杏实生苗地上部生长差异

Fig.4 Differences in areal part growth of ancient *G. biloba* seedlings in different treatments
* 代表 $P<0.01$, ** 代表 $P<0.01$

极显著差异($P<0.01$)。

接种 AM 真菌对古银杏实生苗保持顶部紧密度、增加开展度、增大投影面积有积极作用(图 5)。在接菌后的 120 d,实生苗的紧密度出现下降趋势,CC+FM 显著高于 CK($P<0.05$)。开展度和投影面积的变化趋势基本相同,随着生长时间,CK 逐渐下降,而 CC、FM 和 CC+FM 则呈上升趋势,但各处理间无差异。

CK 中健康叶片的比例在生长过程中持续下降(图 6),在 120d 后降至 38.77%;CC、FM 则波动上升,在

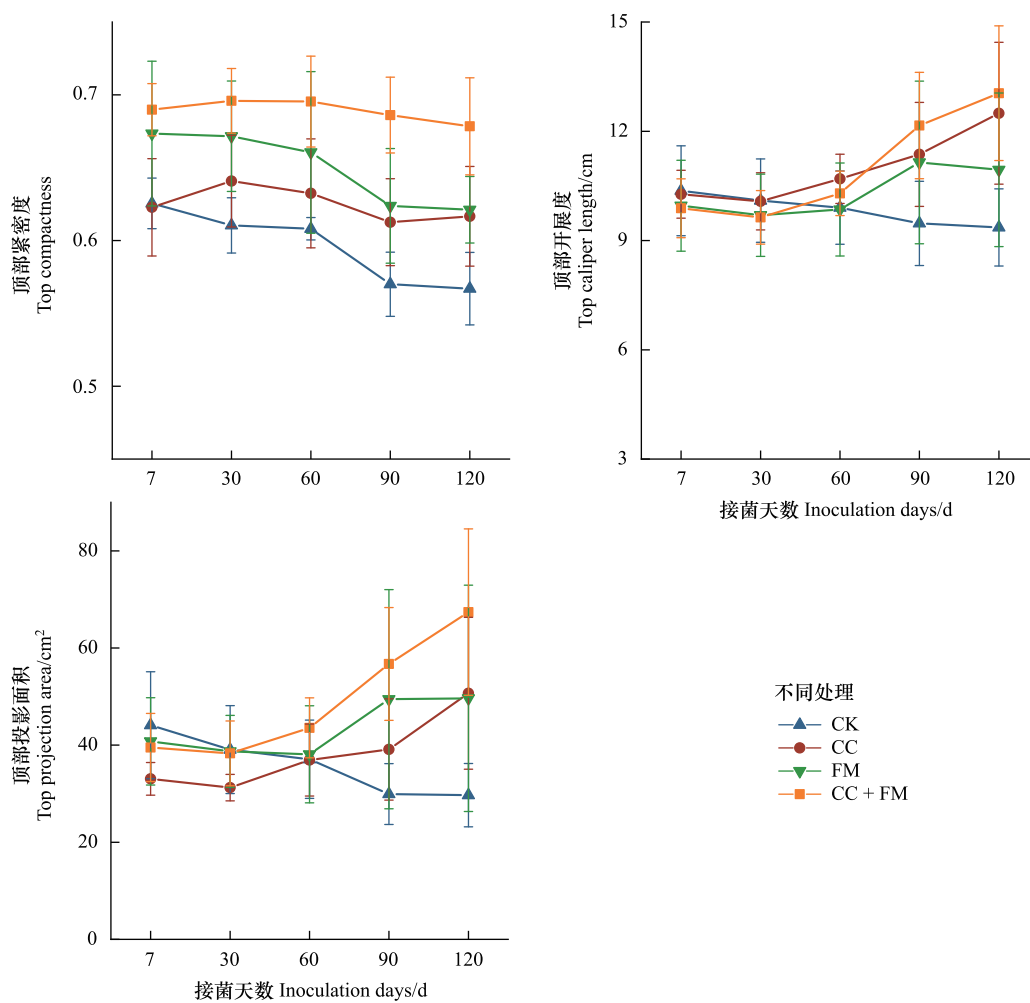


图5 不同处理对古银杏实生苗紧密度、开展度、投影面积的影响

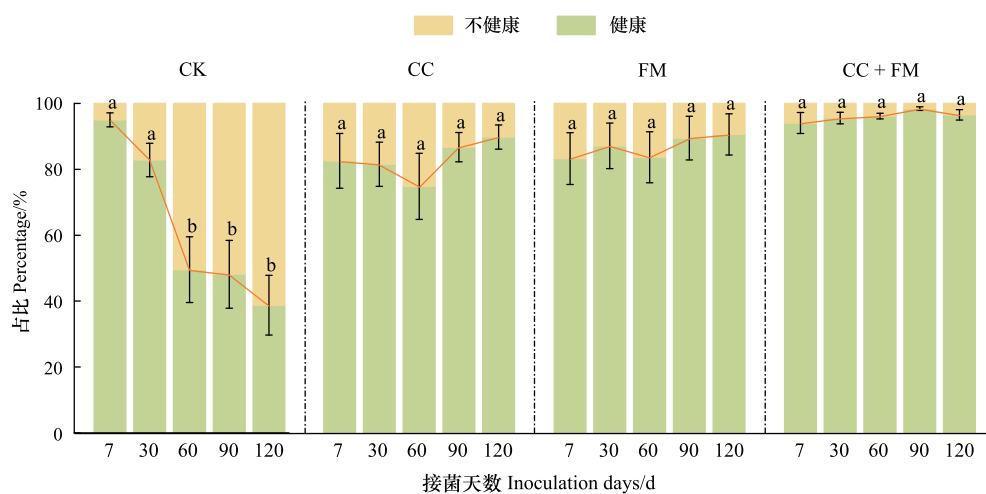
Fig.5 Effects of different treatments on the compactness, caliper length, projection area of ancient *G. biloba* seedlings

图6 不同处理古银杏实生苗叶片健康分析图

Fig.6 Leaf health analysis of ancient *G. biloba* seedlings under different treatments组内不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)

120 d 后达到最大值 89.81% 和 90.61%; CC+FM 一直维持在 90% 以上。在生长 60 d 后, 不同处理的健康叶片比例出现明显的差异, CK 显著低于 CC ($P < 0.05$), 并极显著低于 FM 和 CC+FM ($P < 0.01$)。在 90 d、120 d 后,

CK 健康的叶片比例极显著低于 CC、FM 和 CC+FM ($P<0.01$), 而 3 个接菌处理间仍没有显著性差异。

2.2 古银杏实生苗相对叶绿素含量及叶绿素荧光相关参数分析

相对叶绿素含量 SPAD 在一定意义上可以反映植物叶片的“绿色程度”, 接种土著 AM 真菌对叶片的 SPAD 值有明显的影响(图 7)。随着接种后生长时间的延长, CK 叶片的 SPAD 值呈整体下降趋势, CC、FM 和 CC+FM 则相反。3 个接菌处理, 在 60 d 时与 CK 差异显著 ($P<0.05$), 120 d 时达极显著差异 ($P<0.01$)。

接种土著 AM 真菌能显著提高古银杏实生苗叶绿素荧光参数水平(图 8)。古银杏实生苗的最大光能转化效率 (F_v/F_m) 与潜在活性 (F_v/F_o) 变化一致, 接种后均表现为整体上升的趋势, CK 的 F_v/F_m 、 F_v/F_o 值在生长 30 d 后明显低于其他接菌处理 ($P<0.05$)。PSII 光合效率 $Y(II)$ 在生长 30 d 后, 持续表现为 $FM>CC+FM>CC>CK$, 均显著高于 CK ($P<0.05$)。此外, 非光化学淬灭系数 (NPQ) 在整个生长过程中呈现出下降趋势, 60 d 后 3 个接菌处理间的 NPQ 差异逐渐减小, 90 d 后接菌处理均极显著低于 CK ($P<0.01$)。

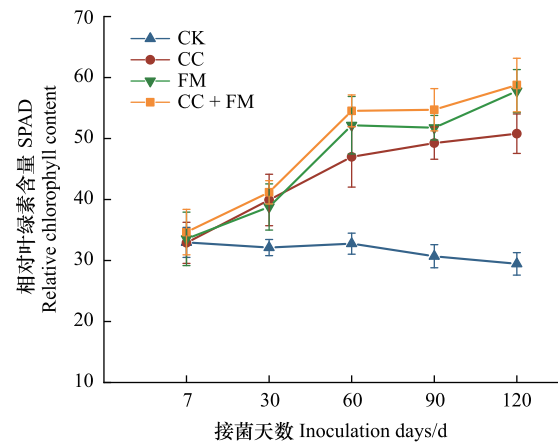


图 7 不同处理各时期古银杏实生苗相对叶绿素含量动态影响

Fig.7 Dynamic effects of different treatments on relative chlorophyll content of ancient *G. biloba* seedlings at different period

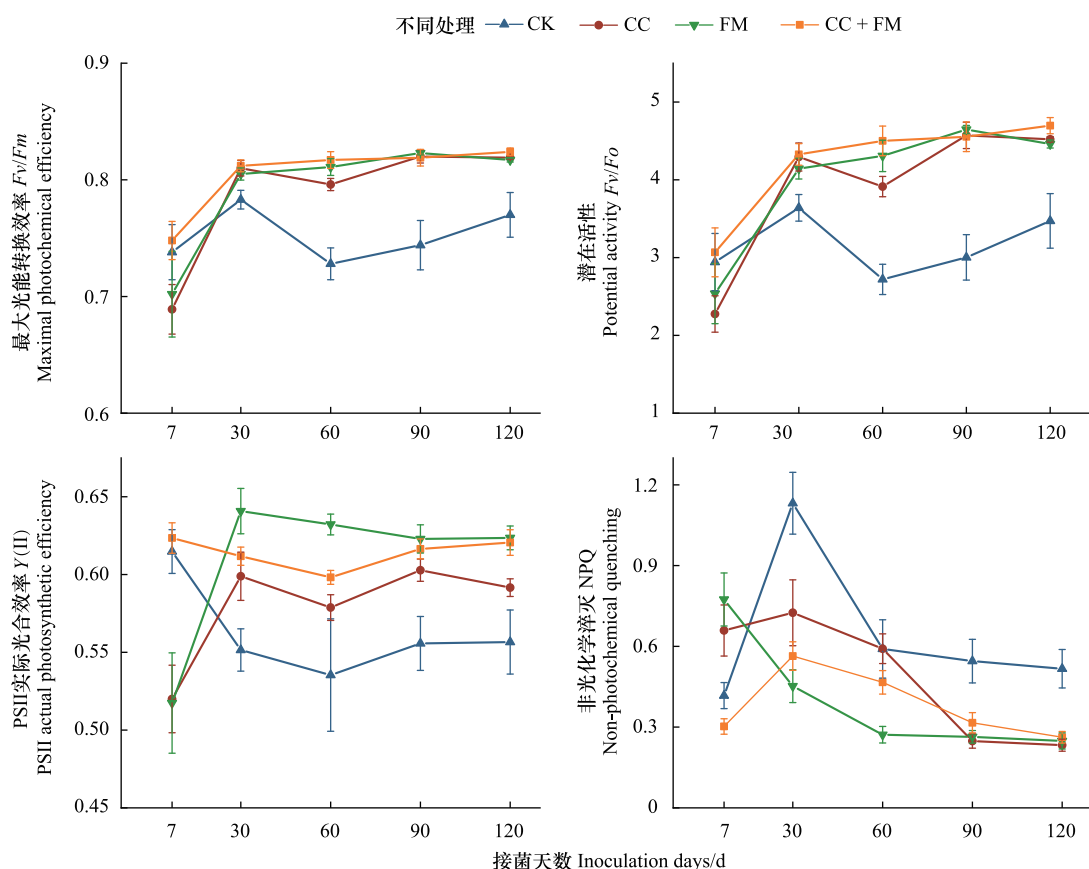


图 8 不同处理各时期古银杏实生苗叶绿素荧光相关参数动态影响

Fig.8 Dynamic effects of different treatments on chlorophyll fluorescence parameters of ancient *G. biloba* seedlings at different period

2.3 古银杏实生苗根系形态及生物量分析

接种土著 AM 真菌对古银杏实生苗的根系形态有所影响(图 9)。120 d 后,各处理植株根系的总根长、根表面积和根体积均呈现出 FM>CC+FM>CC>CK 的结果,但无显著性差异。FM、CC+FM 对根尖数量具有显著影响($P<0.05$),以 CC+FM(平均 746.0 个)最多,极显著高于 CK(平均 367.0 个, $P<0.01$),FM(平均 624.8 个)也显著高于 CK($P<0.05$)。但根平均直径则与其他指标趋势相反,CK 显著高于 FM 和 CC+FM($P<0.05$)。

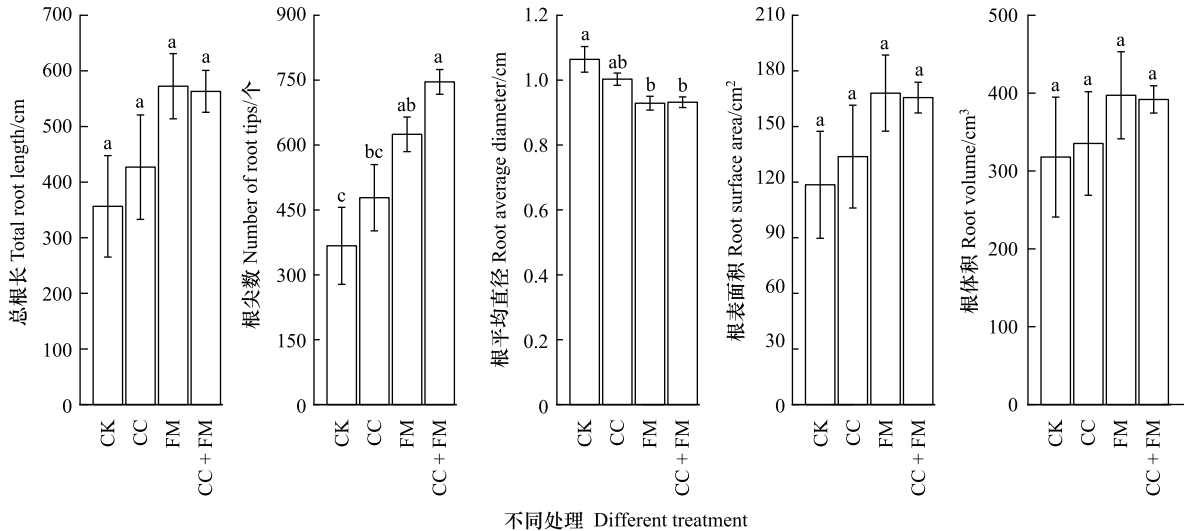


图 9 不同处理对古银杏实生苗根系形态的影响

Fig.9 Effects of different treatments on root morphology of ancient *G. biloba* seedlings

在生物量方面(表 1),古银杏实生苗的地上部干重和总干重以 CC+FM 最大,地下部干重则以 FM 最大,均与 CK 差异显著($P<0.05$)。而 CC 各部分干重及总干重与其他 3 个处理间均没有显著性差异。

表 1 不同处理对古银杏实生苗生物量的影响

Table 1 Effects of different treatments on biomass of ancient *G. biloba* seedlings

处理 Treatments	地上部干重/g Aerial dry weight	地下部干重/g Underground dry weights	全株干重/g Whole-plant dry weight
CK	0.486±0.14b	0.820±0.28b	1.306±0.41b
CC	0.870±0.14ab	1.009±0.15ab	1.879±0.24ab
FM	1.013±0.23ab	1.489±0.15a	2.502±0.36a
CC+FM	1.160±0.16a	1.344±0.13ab	2.504±0.29a

同列不同字母代表具有显著性差异($P<0.05$)

2.4 古银杏实生苗植株养分含量及积累量分析

N、P 是植物生长的必需养分,对植株的生长发育有重要影响。图 10、11 显示,接菌处理(CC、FM、CC+FM),除 CC 对植株 N 积累量外,其余各指标均显著高于 CK($P<0.05$),但 3 个接菌处理间无显著差异。

2.5 古银杏实生苗植株抗氧化酶活性及代谢指标分析

接种土著 AM 真菌对古银杏实生苗植株中的 3 种主要抗氧化酶 SOD、CAT、POD 的活性有明显影响(图 12)。接菌处理后 SOD、CAT、POD 活性均与 CK 呈现极显著差异($P<0.01$),3 个接菌处理间也有所不同,尤其是 POD 活性中以 CC 最高。

接种土著 AM 真菌显著增加了古银杏实生苗叶片的可溶性蛋白含量($P<0.05$)(图 13),其中 FM、CC 植株叶片的可溶性蛋白含量最高,是 CK 的 1.7 倍。单接土著 AM 真菌对可溶性糖含量产生了显著影响($P<0.05$),以 CK 和 CC+FM 最高,CC 含量最低。黄酮类化合物(类黄酮)是银杏次生代谢物中的主要成分之一。

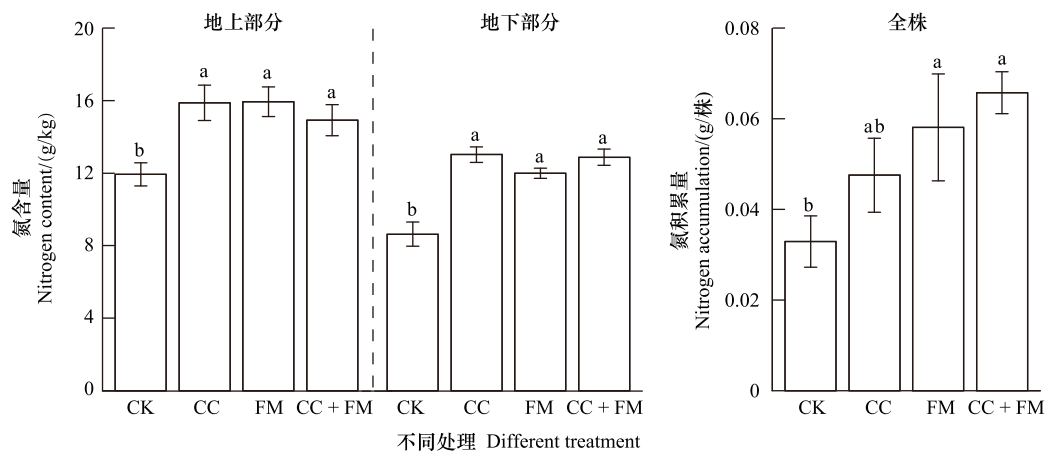


图 10 不同处理对古银杏实生苗 N 含量及 N 积累量的影响

Fig.10 Effects of different treatments on nitrogen content and nitrogen accumulation of ancient *G. biloba* seedlings

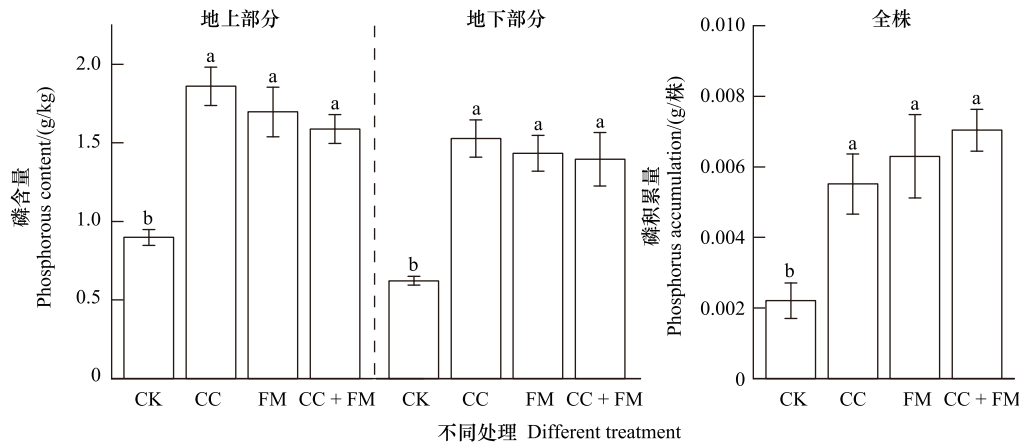


图 11 不同处理对古银杏实生苗 P 含量及 P 积累量的影响

Fig.11 Effects of different treatments on phosphorus content and phosphorus accumulation of ancient *G. biloba* seedlings

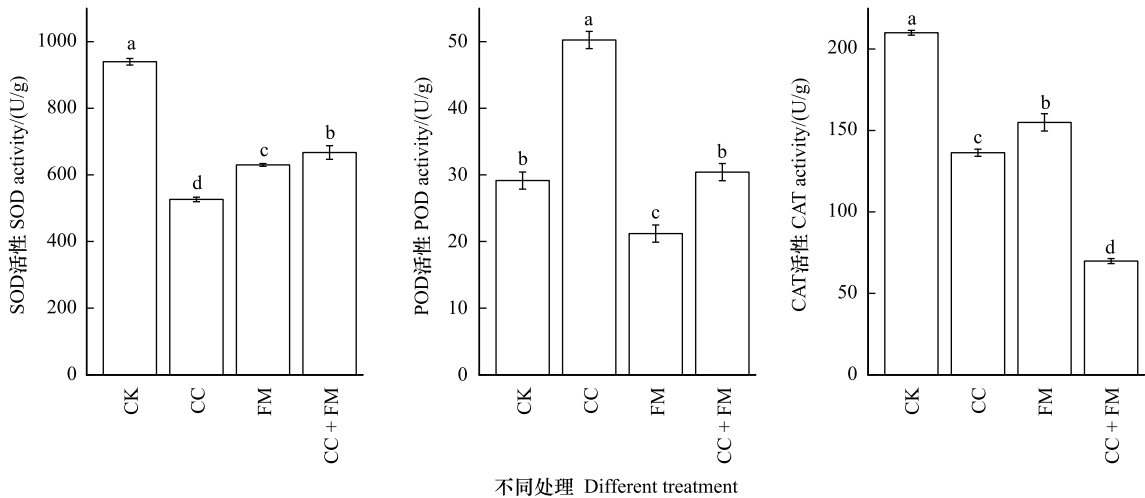


图 12 不同处理对古银杏实生苗抗氧化酶活性的影响

Fig.12 Effects of different treatments on antioxidant enzyme activity of ancient *G. biloba* seedlings

接菌后类黄酮含量要明显高于 CK,以 FM 含量最高,可达 3.48 mg/g。

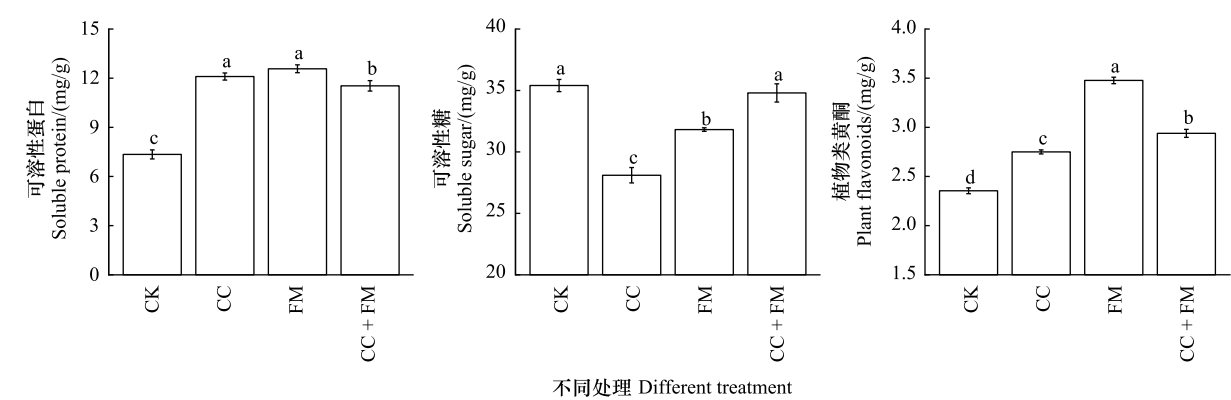


图 13 不同处理对古银杏实生苗代谢物的影响

Fig.13 Effects of different treatments on metabolites of ancient *G. biloba* seedlings

2.6 古银杏实生苗综合生长评价

采用隶属模糊函数综合法,对不同处理古银杏实生苗的生长情况进行综合评价。计算所测定的紧密度等 33 个植株生长、生理指标所得的隶属函数值(表 2),得到不同处理对古银杏实生苗的促生效果由高到低分别为:CC+FM>FM>CC>CK。

表 2 不同处理条件下古银杏实生苗生长、生理与代谢指标的隶属函数值

Table 2 Membership function values of growth, physiological and metabolic indicators of *G. biloba* seedlings under different treatment conditions

指标 Index	CK	CC	FM	CC+FM
紧密度 Compactness	0	0.445	0.486	1
开展度 Caliper length	0	0.851	0.429	1
投影面积 Projection area	0	0.557	0.529	1
叶片健康比例 Leaf health ratio	0	0.883	0.897	1
株高 Plant height	0	0.567	0.672	1
茎粗 Stem diameter	0	0.360	0.725	1
叶片数 Number of leaves	0	0.517	0.483	1
叶面积 Leaf area	0	0.828	0.488	1
相对叶绿素含量 SPAD Relative chlorophyll content	0	0.728	0.966	1
最大光能转化效率 F_v/F_m Maximum photochemical efficiency	0	0.895	0.855	1
潜在活性 F_v/F_o Potential activity	0	0.869	0.821	1
PS II 实际光合效率 $Y(II)$ PS II actual photosynthetic efficiency	0	0.522	1	0.955
非光化学猝灭 NPQ Non-photochemical quenching	0	1	0.945	0.896
总根长 Total root length	0	0.326	1	0.957
根表面积 Root surface area	0	0.307	1	0.951
根平均直径 Root average diameter	1	0.549	0	0.023
根体积 Root volume	0	0.220	1	0.933
根尖数 Number of root tips	0	0.293	0.680	1
地上干重 Aerial dry weight	0	0.570	0.782	1
地下干重 Underground dry weights	0	0.283	1	0.785

续表

指标 Index	CK	CC	FM	CC+FM
全株干重 Whole-plant dry weight	0	0.479	0.998	1
地上氮含量 Aerial nitrogen content	0	0.984	1	0.747
地下氮含量 Underground nitrogen content	0	1	0.766	0.967
全株氮积累量 Whole-plant nitrogen accumulation	0	0.446	0.767	1
地上磷含量 Aerial phosphorus content	0	1	0.830	0.717
地下磷含量 Underground phosphorus content	0	1	0.898	0.855
全株磷积累量 Whole-plant phosphorus accumulation	0	0.683	0.847	1
SOD 活性 SOD activities	1	0	0.251	0.341
POD 活性 POD activity	0.274	1	0	0.317
CAT 活性 CAT activities	1	0.475	0.608	0
可溶性蛋白含量 Soluble protein contents	0	0.909	1	0.801
可溶性糖含量 Soluble carbohydrate content	1	0	0.509	0.917
类黄酮含量 Flavonoid content	0	0.352	1	0.520
平均值 Average value	0.130	0.603	0.734	0.839
排序 Scheduling	4	3	2	1

3 讨论

3.1 接种土著 AM 真菌对古银杏实生苗生长的影响

在低磷灭菌的土壤条件下,AM 真菌几乎能促进所有植物的生长发育、提高产量^[18]。本研究显示在土壤灭菌条件下,接种土著 AM 真菌有助于维持古银杏实生苗叶片、叶柄的紧密度和叶片的健康,增加生物量、叶面积等,与接种外源 AM 真菌促进银杏幼苗生长的结果相同^[12–14]。双接处理使银杏实生苗的 SPAD 值达到最高,光合能力也最强,相应地 CC+FM 实生苗的茎粗、叶片数和冠幅生长指标也显著高于 CK,与陈晓楠的结果一致^[37]。这表明土著 AM 真菌亦具有促进银杏实生苗健康生长的作用。

根系的主要功能为吸收、输导水分及养分物质,其生长发育对植株个体的新陈代谢及地上部生长具有重要影响^[20]。本研究中接种土著 AM 真菌对古银杏实生苗的总根长、根尖个数、根表面积和根体积均产生了一定的促生效果,其原因可能与植物形成菌根结构后能够促进根系养分的吸收有关^[21];结合根平均直径显著低于未接菌处理的结果,可以认为接种处理能够更好地促进植株伸长根系、分生细根,增大根表的吸收面积和根体积,从而为植株的生长供应充足的水分、养分。且接菌处理的古银杏实生苗地上、地下部生物量显著高于不接菌处理,原因是银杏实生苗与 AM 真菌形成菌根,形成丰富的根外菌丝,增大根系吸收范围,增加获取营养物质的途径,促进了银杏根系的生长,进而可促进植物地上与地下部分的生长^[38]。

3.2 接种土著 AM 真菌对古银杏实生苗光合特征的影响

叶片是植物进行光合作用的主要场所,具有合成叶绿素、有机化合物等功能^[22]。叶绿素荧光可探测植物光合作用整个变化过程,荧光参数的变化与植物光合作用强弱密切相关,是反映光合过程的重要参数^[39]。有研究发现接种 AM 真菌能促进最大光化学效率和潜在光化学效率,提高 PS II 反应中心活性^[40]。本研究中随着种植时间的延长,接种土著 AM 真菌能对古银杏实生苗相对叶绿素含量 SPAD 值的正向影响越大,不接菌处理则相反,光合效率降低。并能使银杏叶片具有较高的光能转换效率并提高植株的光合效率^[23],可能是 AM 真菌与植物共生加快了植物吸收转运氮元素的能力提高,促使叶绿素合成,增强光能捕获和电子传递,提高了光合速率。

3.3 接种土著 AM 真菌对古银杏实生苗养分累积的影响

AM 真菌在植物根际形成的菌丝网络有助于帮助宿主植物吸收土壤中的营养元素,进而通过菌丝向根系的运输促进植物体内 N、P 等重要元素的累积^[24–25]。AM 真菌不仅能直接吸收不同来源的 N 并快速转运给植

株^[26],而且能刺激宿主植物根系产生各类有机酸,活化难溶性的 P,提高植物的“P 效率”,进而促进植物生长发育^[27—28]。本研究中接种土著 AM 真菌的古银杏实生苗地上、地下部的 N、P 浓度以及植株的 N、P 积累量均显著高于未接菌处理,这一结果与在蒺藜苜蓿、白三叶草、紫花苜蓿等植物上接种 AM 真菌的结果一致^[29—30]。另外,植株地上部 N 含量的增高可能是由于 AM 真菌能够很好的转运 N,有效改善了植物体内的 N 营养,从而促进了植株新叶数量和叶面积的增长^[26],这也从侧面解释了未接菌对照处理在试验期内无叶片数增长的现象。

3.4 接种土著 AM 真菌对古银杏实生苗抗氧化系统的影响

正常情况下,细胞内自由基的产生与清除处于一种动态平衡,但植物体在不利的生长条件下常会产生过多的活性氧,对细胞膜系统造成伤害^[30]。正常情况下,SOD、POD 能够维持植物体内氧自由基平衡,缓解氧化伤害^[41]。研究表明接种 AM 真菌能促进植物体激活 SOD 等抗氧化酶活性,缓解细胞膜所受到的损害,应对各种胁迫^[42]。另一种广泛存在于植物体内的氧化酶 POD 除了能够参与抗氧化过程外,还具有参与生长素的降解、参与其他物质(酚、甲酸、甲醛、乙烯和乙醇等)氧化过程的生理功能,与植物的生长、生理和发育息息相关^[31]。然而,本研究中接种土著 AM 真菌的植株 SOD、CAT 活性降低,POD 酶活性增加。接种 AM 真菌后 SOD 酶降低,POD 酶活性增加的结果与舒俊江结果一致^[43],CAT 酶活性则相反有所降低。思其原因可能是未接菌处理的古银杏实生苗在栽培基质中生长时积累了大量的活性氧,迫使植株提高了 SOD、CAT 酶的活性,清除体内过多的活性氧维持植株的生长。本研究中古银杏实生苗仅在接种近明球囊霉后 POD 活性增加,其他接菌处理则降低,判断其可能在生长过程中体内积累了除活性氧外的其他底物,促使 POD 活性的升高,但具体的积累物质需进一步探究。

3.5 接种 AM 真菌对银杏实生苗代谢的影响

植物代谢包括初生代谢和次生代谢,两者密不可分。蛋白质、可溶性糖作为初生代谢的重要产物,是生命的物质基础^[21],更与植物的抗逆性密切相关^[32—34]。研究表明接种 AM 真菌能促进植物体内快速累积可溶性糖和可溶性蛋白^[44]。本研究中,可溶性蛋白在单接菌的处理方式下积累量更大,可溶性糖含量变化趋势与 SOD 酶活性结果整体相似有所下降,在未接菌和双接菌的处理方式下积累量更大,可能是未接菌和双接处理银杏体内可能具有较高的渗透压,因此主动积累一些溶质以降低渗透势,进而维持植物的健康生长。但双接处理也可能因叶绿素含量较高,光合作用强,以致积累的可溶性糖含量较多。

许多研究表明 AM 真菌及其与植物共生的过程会影响植物的次生代谢,导致植物的次生代谢产物发生变化,而这些次生代谢产物在植物和 AM 真菌之间形成的共生关系中具有重要作用^[35]。尤其是黄酮类化合物(类黄酮)在提高植物自身竞争力、促进生长、加强与环境的协调等方面发挥着独特作用^[35],部分研究显示 AM 真菌侵染植物后会增加黄酮类物质含量^[36]。本研究中接种土著 AM 真菌处理的古银杏实生苗含有较高的类黄酮含量同样证明了这一结论,且以单接摩西斗管囊霉(*F. mosseae*)的方式更佳。

4 结论

本研究使用从古银杏根际土中分离出的 2 株 AM 真菌,接种 AM 真菌菌种对实生苗生长、生理代谢等指标的影响开展研究。研究发现,单接与混合接种均可促进古银杏实生苗的生长、提高代谢能力,以混合接种效果更加。在生长指标方面,混合接种实生苗的茎粗、叶片数、紧密度、根尖数、生物量最优,单接菌能促进氮磷素的吸收、积累和利用效率。在生理指标方面,发现接种 AM 真菌实生苗组别的 POD 酶活性、可溶性蛋白、类黄酮含量呈现显著优势,表明接种 AM 真菌能提升植物的抗逆性。可见 AM 真菌通过影响植物生长、生理代谢及养分循环等途径,提升了植物的适生性,在未来银杏古树资源保护、种群更新中可发挥积极作用。

参考文献(References):

- [1] Violi H A, Barrientos-Priego A F, Wright S F, Escamilla-Prado E, Morton J B, Menge J A, Lovatt C J. Disturbance changes arbuscular mycorrhizal fungal phenology and soil glomalin concentrations but not fungal spore composition in montane rainforests in Veracruz and Chiapas,

- Mexico. Forest Ecology and Management, 2008, 254(2): 276-290.
- [2] Susana Grigera M, Drijber R A, Wienhold B J. Increased abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in soil coincides with the reproductive stages of maize. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(7): 1401-1409.
- [3] 刘润进, 李晓林. 丛枝菌根及其应用. 北京: 科学出版社, 2000: 26.
- [4] Soares C R F S, Siqueira J O. Mycorrhiza and phosphate protection of tropical grass species against heavy metal toxicity in multi-contaminated soil. Biology and Fertility of Soils, 2008, 44(6): 833-841.
- [5] Huang Z, Zou Z R, He C X, He Z Q, Zhang Z B, Li J M. Physiological and photosynthetic responses of melon (*Cucumis melo* L.) seedlings to three *Glomus* species under water deficit. Plant and Soil, 2011, 339(1): 391-399.
- [6] 郭绍霞, 张玉刚, 王莲英, 刘润进. 中国牡丹主栽培区根围土壤中的丛枝菌根真菌的分离鉴定. 青岛农业大学学报: 自然科学版, 2010, 27(2): 105-109.
- [7] 乐仲发. 土著及外源丛枝菌根真菌对三叶赤楠生长效应的研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2015.
- [8] 康宇. 紫茎泽兰及其根内生真菌在重金属矿区修复中的基础研究[D]. 昆明: 云南大学, 2010.
- [9] 叶要妹, 包满珠. 园林树木栽植养护学. 4 版. 北京: 中国林业出版社, 2017: 373.
- [10] 谢兴刚, 石红旗. 城市生态环境中古树保护应对策略研究. 中国园艺文摘, 2015, 31(10): 79-82.
- [11] 汤兆华, 乐笑玮, 刘建良. 内生菌根菌对上海古银杏的土壤作用研究. 上海建设科技, 2021, 3(3): 113-115.
- [12] 吴强盛, 韦启安. 银杏丛枝菌根及其与土壤有效磷的关系. 长江大学学报: 自然科学版农学卷, 2008, 3(4): 49-51.
- [13] 袁钟鸣, 程雪飞, 王金平, 朱凌骏, 马仕林, 张金池, 储东升. 苏北泥质海岸带滩涂区丛枝菌根真菌感染及土壤因子. 东北林业大学学报, 2019, 47(7): 123-129.
- [14] 张林平, 齐国辉, 杨文利, 卢秀茹. 银杏容器育苗和丛枝菌根接种试验. 河北果树, 2002(3): 9-10.
- [15] Humplík J F, Lazár D, Husířková A, Spíchal L. Automated phenotyping of plant shoots using imaging methods for analysis of plant stress responses-a review. Plant Methods, 2015, 11: 29.
- [16] 何红梅, 申海燕, 夏冬冬, 王玉杰, 张雪莲, 顾群. 不结球白菜生长发育过程中表型变化. 北方园艺, 2019(20): 1-8.
- [17] 孟艳琼, 张令峰, 王雷宏, 傅松玲. 低温胁迫对 6 种彩叶藤本植物抗寒性生理指标的影响. 安徽农业大学学报, 2009, 36(2): 172-177.
- [18] 程俐陶, 刘作易, 郭巧生, 朱国胜. 药用植物丛枝菌根研究进展. 中草药, 2009, 40(1): 156-160.
- [19] 张望望, 刘冰洋, 王一凡, 许志文, 张小全. 植物根系研究进展. 天津农业科学, 2016, 22(11): 11-18.
- [20] 殷小琳, 王冬梅, 丁国栋, 王晓英. 菌根对植物抗盐碱性的影响机理研究. 北方园艺, 2010(5): 229-233.
- [21] 潘瑞炽. 植物生理学. 6 版. 北京: 高等教育出版社, 2008.
- [22] Mechri B, Cheheb H, Boussadia O, Attia F, Ben Mariem F, Braham M, Hammami M. Effects of agronomic application of olive mill wastewater in a field of olive trees on carbohydrate profiles, chlorophyll a fluorescence and mineral nutrient content. Environmental and Experimental Botany, 2011, 71(2): 184-191.
- [23] Sharif M, Claassen N. Action mechanisms of arbuscular mycorrhizal fungi in phosphorus uptake by *Capsicum annuum* L. Pedosphere, 2011, 21(4): 502-511.
- [24] Manaut N, Sanguin H, Ouahmane L, Bressan M, Thioulouse J, Baudoin E, Galiana A, Hafidi M, Prin Y, Duponnois R. Potentialities of ecological engineering strategy based on native arbuscular mycorrhizal community for improving afforestation programs with carob trees in degraded environments. Ecological Engineering, 2015, 79: 113-119.
- [25] 吉春龙, 田萌萌, 马继芳, 金海如. 丛枝菌根真菌对植物营养代谢与生长影响的研究进展. 浙江师范大学学报: 自然科学版, 2010, 33(3): 303-309.
- [26] Smith S E, Smith F A, Jakobsen I. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. Plant Physiology, 2003, 133(1): 16-20.
- [27] 薛英龙, 李春越, 王苾蓉, 王益, 刘津, 常顺, 苗雨, 党廷辉. 丛枝菌根真菌促进植物摄取土壤磷的作用机制. 水土保持学报, 2019, 33(6): 10-20.
- [28] 李金苗. 丛枝菌根真菌在赣南离子型稀土尾矿退化土壤生态修复中的作用[D]. 南昌: 江西农业大学, 2021.
- [29] 臧真凤. 蒺藜苜蓿局部和系统水平上响应水分和 AM 真菌异质性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021.
- [30] 刘家忠, 龚明. 植物抗氧化系统研究进展. 云南师范大学学报: 自然科学版, 1999, 19(6): 1-11.
- [31] 李秋祯, 刘丽萍, 杨其伟, 于秋红, 郝泗城. 激光照射对冬小麦幼苗生长及过氧化物酶同工酶的影响. 天津师大学报: 自然科学版, 1995, 15(4): 60-64.
- [32] Palacio S, Millard P, Maestro M, Montserrat-Martí G. Non-structural carbohydrates and nitrogen dynamics in Mediterranean sub-shrubs: an analysis of the functional role of overwintering leaves. Plant Biology, 2007, 9(1): 49-58.
- [33] Yee D, Tissue D. Relationships between nonstructural carbohydrate concentration and flowering in a subtropical herb, *Heliconia caribaea*

- (Heliconiaceae). Caribbean Journal of Science, 2005, 41(2), 243-249.
- [34] Bansal S, Germino M J. Temporal variation of nonstructural carbohydrates in montane conifers: similarities and differences among developmental stages, species and environmental conditions. Tree Physiology, 2009, 29(4): 559-568.
- [35] 阎秀峰, 王洋, 李一蒙. 植物次生代谢及其与环境的关系. 生态学报, 2007, 27(6): 2554-2562.
- [36] Akiyama K, Hayashi H. Arbuscular mycorrhizal fungus-promoted accumulation of two new triterpenoids in cucumber roots. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2002, 66(4): 762-769.
- [37] 陈晓楠, 伊力努尔·艾力, 高文礼, 王海鸥, 麦格皮热提古丽·达吾提, 马晓东. 盐胁迫下接种丛枝菌根真菌对两种典型荒漠河岸林植物幼苗生长和叶绿素荧光特性的影响. 生态学杂志, 2024, 43(5): 1333-1340.
- [38] 屈明华, 李生, 俞元春, 张金池. 喀斯特土壤生境下丛枝菌根真菌侵染对任豆根系构型的影响. 中国水土保持科学(中英文), 2021, 19(1): 106-114.
- [39] 晏梅静, 补春兰, 黄盖群, 刘刚, 董廷发, 胥晓. 丛枝菌根真菌对桑树(*Morus alba*)地上部分的促进作用. 植物生理学报, 2020, 56(12): 2647-2654.
- [40] 马坤, 王彦淇, 杨建军, 李璐, 王颖, 马焕成. 不同干旱胁迫条件下丛枝菌根真菌对木棉叶绿素荧光参数的影响. 植物资源与环境学报, 2017, 26(3): 35-43.
- [41] 王穗子, 金则新, 李月灵, 谷银芳. 铜胁迫条件下 AMF 对海州香薷光合色素含量、抗氧化能力和膜脂过氧化的影响. 生态学报, 2015, 35(23): 7699-7708.
- [42] Yooyongwech S, Samphumphuang T, Tisarum R, Theerawitaya C, Cha-um S. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) improved water deficit tolerance in two different sweet potato genotypes involves osmotic adjustments via soluble sugar and free proline. Scientia Horticulturae, 2016, 198: 107-117.
- [43] 舒俊江, 鲍荣粉, 黄科文, 刘磊, 黄艳, 林立金, 王铤. 丛枝菌根真菌对桃幼苗生长及硒富集的影响. 湖北农业科学, 2023, 62(8): 113-119, 126.
- [44] 谢雪曼, 王凯渊, 余兰, 韩刚, 杨治友, 林钧, 宋明华, 罗雪峰, 杨晓红. 接种 AM 真菌改善龙眼幼苗抗寒生理的研究. 西南大学学报: 自然科学版, 2023, 45(2): 76-85.