

丛枝菌根真菌对盐(碱)-旱交叉胁迫下羊草幼苗生长与抗氧化酶活性的影响

何汉琼¹ 彭晓媛² 陶爽² 王英男² 徐瑶² 蔺吉祥^{2*}

(¹山西省农业科学院农业环境与资源研究所,山西太原 030000; ²东北林业大学盐碱地生物资源环境研究中心/东北盐碱植被恢复与重建教育部重点实验室)

摘要 羊草营养价值丰富、抗逆性强,是东北松嫩平原最重要的牧草之一。丛枝菌根真菌(AMF)能与绝大多数陆地植物共生,且影响其抗逆性。本文对羊草幼苗接种丛枝菌根真菌并采用 NaCl、NaHCO₃ 以及 PEG 来模拟不同盐(碱)-干旱胁迫条件,研究逆境交叉胁迫下共生生长与抗氧化酶活性的变化。结果表明,在盐(碱)胁迫与干旱胁迫以及盐-旱与碱-旱交叉胁迫下,丛枝菌根真菌均一定程度提高了羊草幼苗的生物量,碱-旱互作的胁迫效应远大于盐-旱互作。盐碱和干旱胁迫下,SOD、POD 和 APX 活性均升高,而 CAT 的活性则呈下降趋势,接种丛枝菌根真菌后,交叉胁迫下抗氧化酶活性同样呈上升趋势。研究结果对于深入理解羊草逆境交叉胁迫适应机理以及丛枝菌根真菌生理功能等科学问题提供了一定理论依据。

关键词 羊草;丛枝菌根真菌;盐碱;干旱;交叉胁迫;抗氧化酶

中图分类号 S154.3 **文献标识码** A **文章编号** 1007-5739(2019)12-0149-02

Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Growth and Antioxidant Enzyme Activities of *Leymus chinensis* Seedlings Under Salt(Alkali) and Drought Stress

HE Han-qiong¹ PENG Xiao-yuan² TAO Shuang² WANG Ying-nan² XU Yao² LIN Ji-xiang^{2*}

(¹Institute of Agricultural Environment and Resources, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan Shanxi 030000; ²Research Center of Saline-alkali Land Biological Resources and Environment, Northeast Forestry University/Key Laboratory of Saline-alkali Vegetation Restoration and Reconstruction of Northeast China, Ministry of Education)

Abstract *Leymus chinensis* is one of the most important forages in the Songnen Plain of Northeast China because of its rich nutritional value and strong stress resistance. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) can coexist with a large number of terrestrial plants and affect their stress resistance. In this paper, AMF was inoculated into *Leymus chinensis* seedlings, the changes of symbiotic growth and antioxidant enzyme activities under cross stress were studied by using NaCl, NaHCO₃ and PEG to simulate different types of salt(alkali)-drought stress conditions. The results showed that AMF increased the biomass of *Leymus chinensis* seedlings to a certain extent under salt(alkali) stress and drought stress, as well as salt-drought and alkali-drought cross-stress. The stress effect of alkali-drought interaction was much greater than that of salt-drought interaction. Under saline-alkali and drought stress, the activities of SOD, POD and APX increased, while the activities of CAT decreased. After inoculating with AMF, the activities of antioxidant enzymes also increased under cross-stress. The research results provide a theoretical basis for understanding the adaptation mechanism of the cross-stress and the physiological functions of AMF.

Key words *Leymus chinensis*; AMF; saline-alkali; drought; cross-stress; antioxidant enzyme

羊草(*Leymus chinensis*)是禾本科多年生禾草,主要分布在我国东北地区,具有较好的耐盐碱性,对恢复退化草地有着重要意义^[1]。近年来,土壤盐碱化问题日益严峻,对农牧业以及环境业发展产生了深远的影响。东北地区属干旱半干旱气候,蒸发量往往大于降水量,干旱胁迫也已经成为制约植物发展的重要非生物环境因子^[2]。因此,对于松嫩丰原盐碱草地植物来说,往往面临的是盐碱胁迫与干旱胁迫形成的交叉胁迫逆境。

丛枝菌根真菌在陆地生态系统中分布广泛,能与 80% 以上的植物形成共生关系,与植物关系极为密切^[3-4]。以往报道多集中于植物耐盐和耐旱性研究,对盐(碱)-旱交叉胁迫报道较少^[5],特别是对于逆境交叉胁迫下植物抗氧化酶研究还并不多见。当植物受到逆境胁迫时,细胞内自由基平衡被打破,使植物细胞受到伤害。因此,对于植物受到胁迫后的抗氧化酶活性的研究尤为重要。本研究对羊草幼苗接种摩西球囊霉(*Glomus mosseae*),并用 NaCl、NaHCO₃ 和 PEG 模拟土壤盐胁迫、干旱胁迫及盐(碱)-旱交叉胁迫条件,从生长与抗氧化酶活性角度来探讨丛枝菌根对羊草逆境交叉胁迫

适应性影响,为羊草抗逆生理学的深入研究提供科学依据。

1 材料与与方法

1.1 供试材料

羊草种子采于吉林省长岭县东北师范大学草业科学定位研究站。采收后的种子放入透气的袋中,并置于 4℃ 冰箱保存。

1.2 试验设计

羊草种子的培养温度设置为 20-30℃,低温 12 h(黑暗),高温 12 h(光照,光照强度为 6 400 lx)。通过前期试验后共设定处理组如表 1 所示。除了单一盐、碱胁迫外,设置逆境交叉胁迫,即盐-旱与碱-旱混合胁迫。每个胁迫处理均含有接种丛枝菌根真菌和未接种丛枝菌根真菌组,4 次重复,胁迫处理共进行 7 d。

1.3 试验方法

对羊草种子进行挑选和消毒,经蒸馏水冲洗后,将种子置于培养皿中,在培养箱中进行发芽试验。萌发后的种子移至花盆中,定苗 8 株。每天用 Hoagland 营养液浇灌。苗置于温室大棚中,120 d 后进行胁迫处理。胁迫后进行收苗、称重,然后在 80℃ 烘箱中烘干至恒重,粉碎样品备用。

1.4 内容与与方法

对抗氧化酶活性进行测定。可溶性蛋白含量测定参考

基金项目 国家自然科学基金项目(31502013)。

作者简介 何汉琼(1986-),女,山西汾阳人,实习研究员,从事植物生理生态学研究。

* 通信作者

收稿日期 2019-03-19

表1 试验处理设计方案

组别	处理	方法
对照组	CK	不做处理
盐胁迫组	S ₁	对羊草进行 100 mmol/L NaCl 处理
	S ₂	对羊草进行 200 mmol/L NaCl 处理
碱胁迫组	A ₁	对羊草进行 100 mmol/L NaHCO ₃ 处理
	A ₂	对羊草进行 200 mmol/L NaHCO ₃ 处理
干旱胁迫组	D ₁	对羊草进行 5%PEG 处理
	D ₂	对羊草进行 10%PEG 处理
接种组	-AM	羊草幼苗接种摩西球囊霉
未接种组	+AM	羊草幼苗不接种摩西球囊霉

考马斯亮兰法^[6],超氧化物歧化酶(SOD)活性测定方法采用硝基氯化四氮唑蓝(NBT)光还原法^[7],过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法^[8],过氧化氢酶(CAT)活性测定采用过氧化氢分解法^[9],抗坏血酸过氧化物酶(APX)测定采用抗坏血酸分解法^[10]。

1.5 数据处理

本研究的数据处理使用 SPSS 17.0 软件,用 Duncan 方法进行多重比较,显著水平为 0.05。

2 结果与分析

2.1 盐-早与碱-早胁迫对羊草生长的影响

由表 2 可知,在无丛枝菌根真菌接种的处理中,羊草植株的干重随着盐浓度逐渐增加而不断下降。在最高盐浓度下(200 mmol/L),羊草干重仅为对照组的 71%。盐-早交叉胁迫使羊草幼苗的干重(P<0.05)显著降低。羊草的干重在 S₁+D₁ 处理下未与 S₁ 发生显著变化,而 S₁+D₂ 与 S₁ 则发生显著变化(P<0.05)。在接种丛枝菌根真菌的处理中,羊草植株干重表现出与未接种相同的变化规律,也是在 200 mmol/L 胁迫下最低(P<0.05)。

表2 盐胁迫和盐-早交叉胁迫对羊草幼苗干重的影响

处理	羊草幼苗干重/g·株 ⁻¹	
	未接种(-AM)	接种(+AM)
CK	0.34±0.05 b	0.48±0.06 b
CK+D ₁	0.23±0.01 a	0.47±0.03 ab
CK+D ₂	0.20±0.02 a	0.40±0.03 a
S ₁	0.27±0.02 b	0.37±0.06 a
S ₁ +D ₁	0.29±0.01 b	0.42±0.02 a
S ₁ +D ₂	0.21±0.02 a	0.37±0.02 a
S ₂	0.24±0.02 b	0.31±0.04 b
S ₂ +D ₁	0.19±0.01 b	0.26±0.02 ab
S ₂ +D ₂	0.18±0.01 a	0.22±0.02 a

由表 3 可知,在无丛枝菌根真菌接种的处理中,羊草植株的干重随着碱浓度逐渐增加而不断下降。在最高碱浓度下(200 mmol/L),羊草干重仅为对照组的 53%。碱-早交叉胁迫同样抑制了羊草幼苗的生长,且 2 个不同干旱浓度处理均与对照、处理 A₁ 有显著差异(P<0.05)。在接种丛枝菌根真菌的处理中,羊草幼苗干重随碱浓度增加同样呈下降趋势,并且当浓度为 200 mmol/L 时最低。对于对照组来说,接种组干重为未接种组的 1.45 倍;在最高碱浓度下,是未接种的 1.16 倍,且在 2 个干旱浓度下,与接种对照组无显著差异(P<0.05)。

2.2 盐(碱)-早交叉胁迫对羊草抗氧化酶活性的影响

试验结果表明,接种丛枝菌根真菌摩西球囊霉在对照组中的 SOD 活性为未接种组的 93.6%,但在最高浓度盐胁迫下(200 mmol/L),SOD 活性为未接种组的 1.37 倍。在盐-

表3 碱胁迫和碱-早交叉胁迫对羊草幼苗干重的影响

处理	羊草幼苗干重/g·株 ⁻¹	
	未接种(-AM)	接种(+AM)
CK	0.34±0.05 b	0.48±0.06 b
CK+D ₁	0.23±0.01 a	0.47±0.03 ab
CK+D ₂	0.20±0.02 a	0.40±0.03 a
A ₁	0.25±0.02 b	0.25±0.02 b
A ₁ +D ₁	0.21±0.02 a	0.24±0.03 ab
A ₁ +D ₂	0.18±0.01 a	0.19±0.02 b
A ₂	0.20±0.03 b	0.22±0.02 a
A ₂ +D ₁	0.18±0.02 ab	0.19±0.01 a
A ₂ +D ₂	0.15±0.01 a	0.17±0.01 a

早交叉胁迫中,PEG 降低了 POD 活性,且高浓度干旱胁迫的作用更强。APX 的活性则小幅度降低,且 2 个干旱处理组间无显著差异。

羊草幼苗 CAT 活性在接种丛枝菌根真菌和未接种丛枝菌根真菌处理下均随着盐浓度逐渐增加呈下降趋势。在最高盐浓度下(200 mmol/L),CAT 活性仅为对照的 83.2%。接种丛枝菌根真菌显著提高了 CAT 活性(P<0.05)。在交叉胁迫未接种处理中,PEG 提高了 CAT 活性,且 2 个干旱浓度的交叉胁迫与单独 100 mmol/L 盐胁迫具有显著差异(P<0.05)。而对于接种丛枝菌根真菌处理,PEG 显著降低了 CAT 活性(P<0.05),但 2 个干旱浓度间无显著差异。

试验结果表明,SOD 活性在盐胁迫与碱胁迫下具有明显差异。羊草幼苗的 SOD 活性在碱胁迫下无论是否有菌根的存在均呈上升趋势,碱-早交叉胁迫显著降低了 SOD 活性,高浓度干旱胁迫与 200 mmol/L 碱胁迫互动时 SOD 活性降低了 41.4%。另外,PEG 显著降低了 POD 活性(P<0.05),高浓度干旱处理抑制作用更强,达到了显著水平。PEG 同样降低了 APX 活性,与 POD 表现出相似的变化规律,但 2 个干旱处理间未达到显著水平。

羊草幼苗过氧化氢酶(CAT)活性无论在接种还是未接种组中都随着碱浓度的逐渐增加而下降,且比盐胁迫下降幅度更大,在最高碱浓度下(200 mmol/L),CAT 活性仅为对照组的 69.79%。另外,接种丛枝菌根真菌后,CAT 活性明显增加(P<0.05),在最高浓度下(200 mmol/L)是未接种的 1.27 倍。碱-早交叉胁迫中,仅有未接种的处理 D₂+A₂ 与处理 A₂ 发生了显著变化(P<0.05)。

3 讨论

植物在自然界中面临的往往是多重胁迫而非单一胁迫类型,因而本研究将干旱胁迫与土壤盐碱胁迫互动,按照东北松嫩平原盐碱草地的特点模拟出盐-早与碱-早条件,与实际环境条件更为贴近,也更易于阐述羊草的逆境适应机理。在本研究中发现,盐-早胁迫与碱-早胁迫对羊草的影响有很大不同。在低浓度盐胁迫下(100 mmol/L),当与低浓度干旱胁迫互动时,羊草的干重有所增加,主要原因可能是植物对不同胁迫产生了交叉适应性,适量的土壤盐浓度和干旱胁迫有利于羊草幼苗的生长,这也与前人的研究结果类似^[11],如适中的盐分可以提高滨藜(*Atriplex halimus*)对水分的适应性。但是在碱胁迫下,干旱胁迫与其互动对羊草的抑制效应很强,主要是因为碱胁迫的毒害效应远大于盐胁迫,不仅具有盐胁迫的特征,还具有独特的高 pH 值,这使得

(下转第 152 页)

通过 ArcGIS 中地图处理软件统计 11 个县区不同层级水源涵养量所占的比例可以发现,水源涵养能力弱的区域约占 10%,集中在西部、中部平川部分地区;而水源涵养能力中等地区约占 55%,包括平川 5 个县大部分地区;水源涵养能力高的区域占 35%,分布在巴山及米仓山、秦岭南麓佛坪县一带。

根据多年降水量统计发现,我国水量平衡要素组成的重要界线年降水量(1 200 mm)在汉中地区基本适用^[9],如南郑县南部、西乡县米仓山沿线年降水量均>1 200 mm,而镇巴县为陕西省暴雨中心,大部分地区年降雨量高达 1 400 mm 以上。通过 ArcGIS 显示结果发现,各地水源涵养能力与降雨量基本相符。

水源涵养功能是大尺度生态系统最主要的生态服务功能,因而通过实施一系列措施获得最大水源涵养量具有重要意义^[4-5],譬如通过植树造林来改善生态系统水源涵养能力、减轻人类活动的影响、控制水土流失等。作为“南水北调”中线水源涵养地和陕西“引汉济渭”工程水源涵养地,近几年已开展一系列生态工程建设方案,例如天然林保护工程、退耕还林工程、贫困地区生态移民工程、资源利用工程、居民教育工程。上述工程已纳入生态功能保护区规划之中,按照国家、地方法律法规、政策,可协调区域内生态环境的可持续发展。

(上接第 150 页)

与干旱胁迫交互作用反而加剧了抑制效应。因此,在本研究中,碱-旱胁迫下羊草干重不断降低。接种丛枝菌根真菌摩西球囊霉后,各处理羊草幼苗干重均一定程度增加,说明丛枝菌根提高了羊草幼苗对盐胁迫的适应性,通过菌丝吸收更多的养分,进而增加植株对矿质元素的吸收,在一定程度上提升了抗逆性^[12]。

抗氧化酶活性在植物应答逆境胁迫过程中具有重要的作用。SOD 在清除细胞内的超氧自由基的同时会产生 H₂O₂,而 POD 和 CAT 又是清除 H₂O₂ 的重要酶,可将 H₂O₂ 分解成水,APX 在 AsA-GSH 氧化还原途径清除活性氧的过程中发挥重要作用^[13-17]。本研究结果表明,随着盐(碱)胁迫浓度增加,SOD、POD 和 APX 活性均升高,促进自由基的清除,提高了清除活性氧的能力,并进一步降低丙二醛引起的膜脂过氧化,缓解膜的受损程度。CAT 活性降低,说明在羊草幼苗中 H₂O₂ 的分解主要依赖 POD。另外,通过接种丛枝菌根真菌发现,SOD 活性有所降低,但其余 3 种酶活性均不同程度升高,这说明丛枝菌根真菌能够改变植物抗氧化酶的活性,增强植物对逆境胁迫的适应性。具有丛枝菌根结构的植株即使在高浓度胁迫下仍具有清除自由基能力,减小植物受到的伤害。另外,在盐-旱和碱-旱交叉胁迫下,无论是否接种丛枝菌根真菌,4 种抗氧化酶活性均降低,且下降幅度随胁迫浓度升高而增加,说明一旦超过临界浓度,羊草体内酶活性就会下降。

4 参考文献

[1] JIN H, PLAHA P, PARK J Y. Comparative EST profiles of leaf and root of *Leymus chinensis*, a xerophilous grass adapted to high pH sodic soil[J]. Plant Science, 2006, 170(6): 1081-1086.

3 结论

(1)从空间尺度分析,汉中地区水源涵养能力呈现自西向东、从北到南逐渐增强分布。

(2)西部嘉陵江流域的略阳、宁强两县部分地区水源涵养量较小,在评估生态系统整体水源涵养能力时,不能简单认为水系附近水源涵养能力就强^[6-8]。

(3)汉中是重要的水源涵养区,在土壤保持和南水北调中线工程中起到了极其重要的作用,加大对该地区的生态保护具有十分重要的意义。

4 参考文献

[1] 邓坤枚,石培礼,谢高地.长江中游森林生态系统水源涵养量与价值研究[J].资源科学,2002,24(6):68-73.

[2] 田静,苏红波,陈少辉,等.近 20 年来中国内陆地表蒸散的时空变化[J].资源科学,2012,34(7):1277-1286.

[3] 郭中伟,甘雅玲.基于功能与空间格局的区域生态系统保育策略[J].生物多样性,2002,10(4):399-408.

[4] 李盈盈,刘康,胡胜,等.陕西省子午岭生态功能区水源涵养能力研究[J].干旱区地理,2015,38(3):636-642.

[5] 王先棒,贺康宁,董喆,等.北川河流域典型林型水源涵养能力评价[J].中国水土保持科学,2017,15(5):94-102.

[6] 刘昌明,钟骏.黄土高原森林对年径流影响的初步分析[J].地理学报,1978,33(2):31-36.

[7] 康艳.秦岭山地植被水源涵养功能空间分布格局及生态保育策略[D].西安:西北大学,2005.

[8] 刘康,马乃喜,胥艳玲,等.秦岭山地生态环境保护与建设[J].生态学杂志,2004(3):157-160.

[9] 曾丽红,宋开山,张柏.松嫩平原不同地表覆盖蒸散特征的遥感研究[J].农业工程学报,2010,26(9):233-242.

[10] 李涛,陈保冬.丛枝菌根真菌通过上调根系及自身水孔蛋白基因表达提高玉米抗旱性[J].植物生态学报,2012,1(9):973-981.

[11] 刘润进,李晓林.丛枝菌根及其应用[M].北京:科学出版社,2000:77-78.

[12] 任红旭,陈雄,王亚馥.抗旱性不同的小麦幼苗在水分和盐胁迫下抗氧化酶和多胺的变化[J].植物生态学报,2001,25(6):709-715.

[13] 王英男.羊草-丛枝菌根共生体对氮沉降与盐碱胁迫互作的生理响应[D].哈尔滨:东北林业大学,2016.

[14] BEAUCHAMP C, FRIDOVICH I. Superoxide dismutase: Improved assays and assay applicable to acrylamide gels[J]. Analytical Biochemistry, 1971, 44(1):276-287.

[15] KAR R K, CHOUDHURI M A. Possible mechanisms of light-induced chlorophyll degradation in senescing leaves of *Hydrilla verticillata* [J]. Physiologia Plantarum, 1987, 70(4):729-734.

[16] KATO M, SHIMIZU S. Chlorophyll Metabolism in higher plants VI. involvement of peroxidase in chlorophyll degradation[J]. Plant & Cell Physiology, 1985, 26(7):1291-1301.

[17] MISHRA N P, MISHRA R K, SINGHAL G S. Changes in the activities of anti-oxidant enzymes during exposure of intact wheat leaves to strong visible light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors[J]. Plant Physiology, 1993, 102(3):903-910.

[18] MARTINEZ J P. NaCl alleviates polyethylene glycol-induced water stress in the halophyte species *Atriplex halimus* L. [J]. Journal of Experimental Botany, 2005, 56(419):2421-2431.

[19] 杨亚忠. 逆境胁迫下丛枝菌根对茶树生长及茶叶品质的影响[J]. 绿色科技, 2016(7):127-128.

[20] 韩蕊莲,李丽霞,梁宗锁. 干旱胁迫下沙棘膜脂过氧化保护体系研究[J]. 西北林学院学报, 2002, 17(4):1-5.

[21] 刘宛,胡文玉. NaCl 胁迫及外源自由基对离体小麦叶片 O₂⁻ 和膜脂质过氧化的影响[J]. 植物生理学报, 1995(1):26-29.

[22] 杨建伟,韩蕊莲,刘淑明. 不同土壤水分下杨树的蒸腾变化及抗旱适应性研究[J]. 西北林学院学报, 2004, 19(3):7-10.

[23] BOHNERT H J, NELSON D E, JENSEN R G. Adaptation to environmental stresses[J]. Plant Cell, 1995(7):249.

[24] 王霞,尹林克. 土壤水分胁迫对柽柳体内膜保护酶及膜脂过氧化的影响[J]. 干旱区研究, 2002, 19(3):17-20.