

低温胁迫对接种丛枝菌根真菌番茄幼苗生理特性的影响

闫妍¹ 孙超^{1,2} 于贤昌¹ 张志斌¹ 贺超兴^{1*}

(1. 中国农业科学院 蔬菜花卉研究所,北京 100081;

2. 山东农业大学 园艺科学与工程学院,山东 泰安 271018)

摘要 为探明丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)提高番茄幼苗抗冷性的生理机制,以中杂 105 为材料,研究接种 AMF 对低温胁迫下番茄幼苗生长和相关生理指标的影响。结果表明:低温胁迫使番茄幼苗株高、地上部和地下部干鲜质量的增量和相对叶绿素含量减小,并导致电解质渗透率、可溶性蛋白和 MDA 含量增加,SOD 和 POD 活性升高,而 CAT 活性呈先升高后降低的趋势;但接种 AMF 的幼苗在低温胁迫下较普通番茄幼苗各生长指标的增量、叶片相对叶绿素和可溶性蛋白的含量均有增加,SOD、POD 和 CAT 的活性亦有增加,同时电解质渗透率和 MDA 含量显著减少。由此可见,接种 AMF 能减轻低温胁迫对番茄生长的不利影响,从而增强番茄幼苗对低温胁迫的适应性。

关键词 丛枝菌根真菌; 番茄; 低温胁迫; 生理特性

中图分类号 S 641.4

文章编号 1007-4333(2011)06-0064-06

文献标志码 A

Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on physiological properties of tomato seedlings under low temperature stress

YAN Yan¹, SUN Chao^{1,2}, YU Xian-chang¹, ZHANG Zhi-bin¹, HE Chao-xing^{1*}

(1. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;

2. College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract The objective of this study was to gain better insight into the biological mechanisms of enhancing Chilling resistance tomato seedlings by AMF (arbuscular mycorrhizal fungi). Tomato variety 'zhong za No. 105' was used. The growth and physiological indexes were measured under low temperature stress following inoculating AMF. The results indicated that low temperature stress resulted in decreases of height, fresh weight, dry weight and root-shoot ratio and the relative chlorophyll content, but increases of electrolyte permeability, soluble protein and MDA contents and, the activities of SOD and POD. The activity of CAT increased firstly and then reduced. AMF-inoculation improved the increment of plant height, the relative chlorophyll, soluble protein contents, SOD, POD and CAT activities. In contrast, the electrolyte permeability and MDA content decreased. It is therefore concluded that the cold tolerance of tomato seedlings was enhanced by AMF, probably due to alleviating damages to physiological indexes.

Key words arbuscular mycorrhizal fungi; tomato; low temperature stress; physiological property

番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill)属于喜温性蔬菜,对温度反应敏感。其适宜生长发育温度为 20~25 °C,温度低于 10 °C 生长发育受阻,5 °C 生长完全停止^[1]。低温在植物整个生育过程中

均会造成不利影响,如冷害会造成植株苗弱、生长迟缓、萎蔫、黄化、局部坏死、坐果率低、产量降低和品质下降等不良影响^[2]。在北方日光温室冬春季生产中,低温逆境是影响番茄产量和质

收稿日期:2011-04-01

基金项目:国家科技支撑计划项目(2011BAD12B03,2011BAD12B01);农业部园艺作物遗传改良重点开放实验室资助

第一作者:闫妍,研究实习员,硕士,主要从事设施蔬菜与逆境生理研究,E-mail:yanyan101@163.com

通讯作者:贺超兴,研究员,博士,主要从事设施蔬菜栽培技术研究,E-mail:ivf_sszp@mail.caas.net.cn

量的主要障碍之一。

丛枝菌根真菌(Arbuscular Mycorrhizal Fungi, AMF)是兼有植物根系和专性营养共生真菌特性的一类内生菌根,主要由根中的菌丝、菌根、液泡及土中的菌丝和孢子等部分组成^[3]。研究表明:菌根共生后可以通过不同方式和途径影响植物的代谢过程,不仅能够影响植物的生长发育、水分和矿物质营养元素(N、P、Fe、Cu 和 Zn)的吸收和利用,还能增强植物的抗逆能力^[4]。近年来已有研究报道 AMF 可以提高玉米^[5-6]、小麦^[7]、韭菜^[8]和茄子^[9]的耐低温能力,但关于利用 AMF 提高番茄抗冷性方面的研究尚未见报道。本研究旨在阐明 AMF 提高番茄抗冷性的作用和可能生理机制,为提高番茄抗冷性提供一条新的有效途径。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于 2010 年 4—6 月在中国农业科学院蔬菜花卉研究所试验温室进行,供试番茄品种为“中杂 105 号”,将饱满一致的种子于 75% 的酒精中浸泡 5 min 消毒后用去离子水冲洗干净,置于恒温箱中 28 °C 条件下催芽。

接种菌种为产自澳大利亚的摩西球囊霉(*Glomus mosseae*, GM),菌剂为经三叶草扩繁的含有侵染根段、真菌孢子和沙土的复合物,孢子密度为 3.8 个/g。

1.2 方法

1.2.1 试验设计

供试基质为草炭和蛭石按体积比 1:1 混合均匀,于烘箱中 160 °C 高温灭菌 2 h,自然冷却后继续 160 °C 烘 2 h 后放凉备用;采用高和直径均为 10 cm 的黑色塑料营养钵进行栽培,营养钵使用前用 75% 酒精擦洗消毒。试验设 4 个处理:1) 常温不接菌(CK): 基质+10 g 灭菌接种物,昼/夜温度 25/15 °C;2) 低温不接菌(L): 基质+10 g 灭菌接种物,昼/夜温度 12/8 °C;3) 常温接菌(GM): 基质+10 g 菌剂,昼/夜温度 25/15 °C;4) 低温接菌(LGM): 基质+10 g 灭菌接种物,昼/夜温度 12/8 °C。将发芽整齐的种子分别播于装有接种 10 g 菌剂和接种 10 g 灭菌接种物(保持营养物的一致)的基质的营养钵中

育苗,常规管理。幼苗长至五叶一心时取长势一致的幼苗移到光照培养箱(光照设为 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$)进行温度处理。每个处理番茄幼苗 20 株,重复 3 次。

低温处理前(0 d)、低温处理 3 和 6 d,取各处理植株第 4 和 5 片叶分别测定各项生理指标。

1.2.2 测定方法

1) 生长参数的测定。分别于低温处理前(0 d)和低温处理 6 d 时,测量幼苗株高(从子叶到生长点的高度);分别将幼苗地上部和地下部用清水冲洗表面杂物,再用去离子水冲洗干净,擦干,称鲜质量,105 °C 杀青 15 min,75 °C 烘至恒重,称干质量。

2) 菌根侵染率测定。采用根段法^[10]。

3) 相对叶绿素含量的测定。采用 SPAD-502 (Konica, 日本)叶绿素测定仪对番茄完全展开的第 4 片叶进行相对叶绿素含量的测定。

4) 可溶性蛋白含量的测定。采用 Bradford 考马斯亮蓝 G-250 法^[11]。

5) 电解质渗透率的测定。采用电导法^[12]。

6) MDA 含量的测定。采用硫代巴比妥酸法^[13]。

7) 抗氧化酶活性的测定。SOD 活性采用 Giannopolitis 等^[14]的方法; POD 活性采用曾韶西等^[15]的方法; CAT 活性采用 Dhindsa 等^[16]的方法。

8) 数据处理。每试验组设 3 个重复。所有数据均用 Excel 2003 软件进行分析和绘图,采用 SPSS 13.0 软件(Duncan 法)进行差异显著性($P < 0.05$)分析。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫下番茄植株生物量和 AMF 侵染率

由表 1 可知,常温条件下接种 AMF 的番茄幼苗株高、地上部鲜质量和地下部干鲜质量增长量均显著高于对照(CK);低温胁迫下番茄植株生长受到抑制,其株高、地上部和地下部干鲜质量的增长量分别比对照下降 34.48%、47.62%、36.99%、54.55%和 38.64%;接菌(LGM)幼苗的株高、地上部和地下部干鲜质量的增长量分别比未接菌处理(L)提高了 23.68%、63.64%、44.95%、60.00%和 25.93%。接菌处理(LGM)明显缓解了低温胁迫对番茄植株生长的影响。

表1 低温胁迫下 AMF 对番茄幼苗株高和干鲜重增长量的影响

Table 1 Effects of AMF on increment of height and fresh weight, dry weight of tomato seedlings under low temperature stress

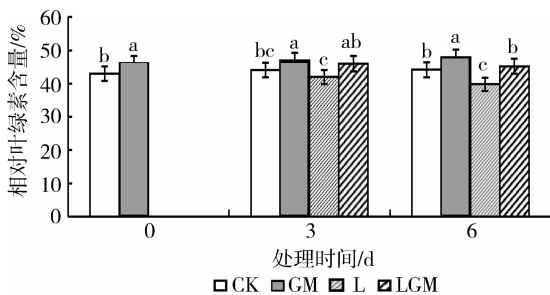
处 理	株高增长量/cm	鲜质量增长量/g		干质量增长量/g		菌根侵染率/%
		地上	地下	地上	地下	
CK	2.90 b	1.73 b	0.44 b	0.21 ab	0.11 b	0
GM	3.30 a	1.97 a	0.60 a	0.23 a	0.16 a	49.18 a
L	1.90 d	1.09 d	0.27 d	0.11 b	0.05 d	0
LGM	2.35 c	1.58 c	0.34 c	0.18 ab	0.08 c	30.33 b

注:数据经邓肯氏新复极差测验,不同小写字母表示 $P < 0.05$ 时差异显著。下同。

未接种番茄根系没有受到 AMF 的侵染,接种番茄根系菌根侵染率较高。常温条件下的菌根侵染率较高,达 49.18%;低温胁迫下的菌根侵染率降低了 38.33%。

2.2 低温胁迫下 AMF 对番茄相对叶绿素含量的影响

由图 1 可知,常温条件下接菌处理(GM)和对照(CK)番茄幼苗叶片中的相对叶绿素含量在处理过程中均稍有增加,其中接菌处理(GM)幼苗叶片的相对叶绿素含量均显著高于同期对照(CK)。低温胁迫下,接菌处理(LGM)与未接菌处理(L)的相对叶绿素含量均显著下降,低温胁迫第 3 和 6 天时接菌处理(LGM)的相对叶绿素含量分别比未接菌处理(L)提高 9.60% 和 13.57%。说明接种 AMF 可以显著提高叶片相对叶绿素含量和促进光合作用。



CK 为常温下不接种 AMF;GM 为常温接种 AMF;
L 为低温不接种 AMF;LGM 为低温接种 AMF。下同。

图 1 低温胁迫下 AMF 对番茄叶片相对叶绿素含量的影响

Fig. 1 Effects of AMF on relative chlorophyll content in leaves of tomato seedlings under low temperature stress

2.3 低温胁迫下 AMF 对番茄可溶性蛋白含量的影响

由图 2 可知,常温条件下接菌处理(GM)幼苗叶片中的可溶性蛋白含量显著高于对照(CK)。低温胁迫下,接菌处理(LGM)与未接菌处理(L)的可溶性蛋白含量随胁迫时间的延长均呈上升趋势,且接菌处理(LGM)中可溶性蛋白含量均显著高于同期未接菌处理(L)。同时,低温胁迫第 3 和 6 天时接菌处理(LGM)的可溶性蛋白含量分别比未接菌处理(L)提高 17.27% 和 4.79%。说明低温胁迫可以引起番茄幼苗叶片可溶性蛋白的积累,而接种 AMF 可以显著增加积累量。

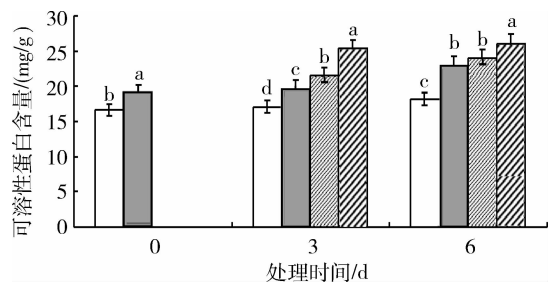


图 2 低温胁迫下 AMF 对番茄叶片可溶性蛋白含量的影响

Fig. 2 Effects of AMF on soluble protein content in leaves of tomato seedlings under low temperature stress

2.4 低温胁迫下 AMF 对番茄抗氧化酶活性的影响

常温条件下,对照和接菌处理(GM)番茄叶片的 SOD 活性随着时间的延长变化不大,其中接菌处理(GM)幼苗叶片中的 SOD 活性均显著高于同期对照(CK)。低温胁迫条件下,接菌处理(LGM)与

未接菌处理(L)的 SOD 活性随胁迫时间的延长均呈上升趋势,且接菌处理(LGM)中 SOD 活性均显著高于同期未接菌处理(L)。同时,低温胁迫第 3 和 6 天时接菌处理(LGM)的 SOD 活性分别比未接菌处理(L)提高 16.49 %和 31.58 %。(图 3(a))

常温条件下,对照幼苗叶片中的 POD 活性变化不大,且均显著低于同期接菌处理(GM)。低温胁迫下,接菌处理(GM)幼苗幼苗叶片的 POD 活性变化趋势和幼苗 SOD 活性变化趋势类似,低温胁迫第 3 和 6 天时接菌处理(LGM)POD 活性分别比未接菌处理(L)提高 30.86 %和 40.50 %。(图 3(b))

在常温条件下对照(CK)叶片 CAT 活性随着时间的延长稍有下降,而接种 AMF 可以显著提高常

温下叶片的 CAT 活性,在第 3 和 6 天分别比对照(CK)提高 56.88 %和 53.19 %。低温胁迫下 CAT 活性呈先升高后降低的趋势,胁迫第 3 天时接菌处理(LGM)与未接菌处理(L)的 CAT 活性均高于对照(CK),分别比对照提高 36.71 %和 23.07 %;胁迫第 6 天时接菌处理(LGM)与未接菌处理(L)CAT 活性均显著降低,分别比对照降低 3.55 %和 31.91 %。同时,低温胁迫第 6 天时接菌处理(LGM)的 CAT 活性比未接菌处理(L)提高 41.67 %。(图 3(c))

低温胁迫下,接种 AMF 植株 SOD、POD 和 CAT 活性均维持较高水平,使其更有效地清除胁迫产生的超氧自由基。

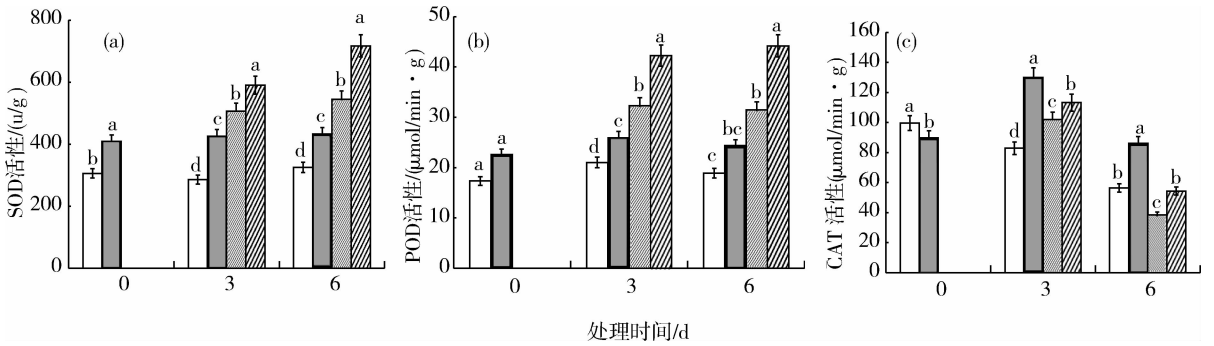


图 3 低温胁迫下 AMF 对番茄叶片抗氧化酶活性的影响

Fig. 3 Effects of AMF on antioxidant enzymes activity in leaves of tomato seedlings under low temperature stress

2.5 低温胁迫下 AMF 对番茄细胞膜透性和 MDA 含量的影响

由图 4 可知,常温条件下番茄幼苗叶片对照和接菌处理(GM)的电解质渗透率没有显著差异。低

温胁迫条件下,接菌处理(LGM)与未接菌处理(L)的电解质渗透率随胁迫时间的延长均呈上升趋势,且接菌处理(LGM)中电解质渗透率均显著低于同期未接菌处理(L)。同时,低温胁迫第 3 天和 6 天

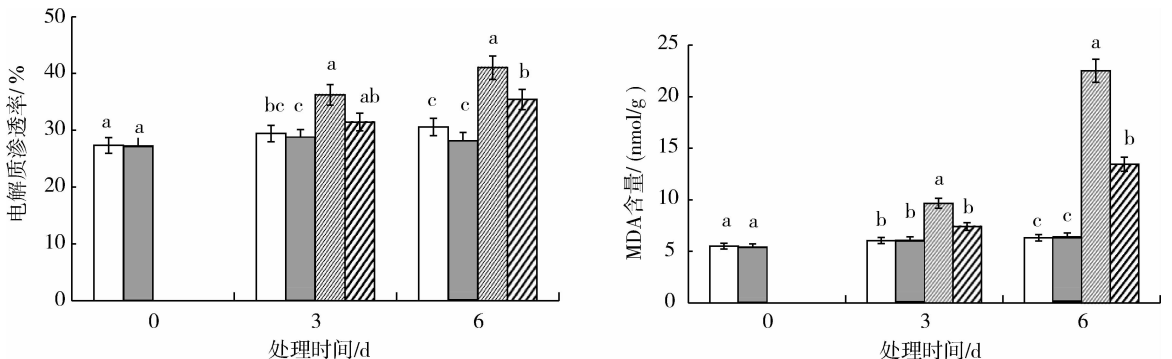


图 4 低温胁迫下 AMF 对番茄叶片电解质渗透率和 MAD 含量的影响

Fig. 4 Effects of AMF on electrolyte permeability and MDA content in leaves of tomato seedlings under low temperature stress

时接菌处理(LGM)的电解质渗透率分别比未接菌处理(L)降低 13.21%和 13.65%。低温胁迫条件下接种 AMF 对叶片 MDA 含量的影响表现出与电解质渗透率相同的趋势,第 3 和 6 天时接菌处理(LGM)的 MDA 含量分别比未接菌处理(L)降低 23.20%和 40.2%。表明低温接种 AMF 后叶片的 MDA 含量降低,膜脂过氧化程度减轻,细胞质膜因低温胁迫引起的伤害程度减弱,从而提高了植物对低温的抵抗能力。

3 讨论

研究表明低温胁迫下接种 AM 真菌能够提高玉米的生物量,促进植株生长^[17]。本试验研究结果与其相一致,低温胁迫条件下番茄幼苗的株高、地上部干鲜质量和地下部干鲜质量增长量均明显降低,而接种 AMF 后各项指标均高于未接种处理。表明低温胁迫下接种 AMF 有利于生物量的积累,促进植株生长。这可能由于番茄接种 AMF 后其根系变发达、根系吸收面积增加,帮助植株根系对水分和养分的吸收^[18],进而提高植株的耐低温能力。

低温能降低番茄叶绿素的含量,且温度越低,降低越明显^[19]。低温条件下接种 AMF 可以提高植物叶绿素含量、促进光合作用。朱先灿等^[17]在低温胁迫下对玉米接种 AM 真菌后发现,菌根玉米相对叶绿素含量高于非菌根玉米。Paradis 等^[6]对春小麦进行 5℃ 低温处理后发现接种菌根的春小麦其叶绿素含量比未接种的高。本试验研究结果与其相同,表明低温胁迫下番茄叶绿素含量明显下降,接种 AMF 后番茄叶片叶绿素含量显著提高。这可能由于低温影响叶绿素生物合成酶的活性,从而影响叶绿素合成。而接种 AMF 后促进了番茄叶片叶绿体的形成和合成速率,进而提高光合能力增强其耐低温能力。可溶性蛋白是植物体内的重要渗透调节物质,在低温下可显著增强细胞的保护力,增加束缚水含量和原生质弹性,对提高植株的抗寒性有重要作用^[20]。Charest 等^[21]对菌根玉米经 10℃ 低温处理后发现菌根苗与非菌根苗蛋白质含量均升高。本试验研究表明低温胁迫下番茄叶片接菌与未接菌处理可溶性蛋白含量均显著高于对照,且接种 AMF 使可溶性蛋白含量进一步提高。可溶性蛋白含量提高有利于减少细胞失水,降低低温给细胞带来的伤害。

SOD、POD 和 CAT 是细胞抵御活性氧伤害的重要保护酶,逆境条件下,SOD 能催化超氧物自由基的歧化作用成为分子氧和 H₂O₂,H₂O₂ 作为信号分子可以激活下游的防御反应,又在 CAT 和 POD 的作用下形成水,从而减少过量 H₂O₂ 积累对植物体造成的毒害作用^[22-23]。植物遭受低温胁迫的主要特征是活性氧代谢的失调。当抗氧化系统不能有效清除过多活性氧的产生,其在细胞内大量积累使膜受损伤,膜内电解质大量向膜外渗透,破坏了细胞内外的离子平衡造成丙二醛(MDA)积累,MDA 的积累进一步对膜和细胞造成伤害^[24]。孙守如等^[25]以西葫芦为材料研究发现,低温处理 6 d 时酶活(SOD、POD 和 CAT)受影响最大,其中 SOD 活性呈先大幅上升后逐步下降的趋势,且在处理第 6 天时达到最大值。林多等^[26]研究发现低温处理期间,番茄幼苗叶片中 CAT 活性呈先上升后下降的趋势,且随低温处理时间的延长 POD 活性呈上升趋势,膜脂过氧化产物 MDA 含量和细胞膜透性均与低温处理时间呈正相关。马德华等^[27]以黄瓜为材料研究发现,经低温胁迫后,耐寒性强的品系 SOD 活性上升,而耐寒性弱的品系 SOD 活性则降低。

本研究的试验结果表明,在低温胁迫期间 SOD 和 POD 活性呈上升趋势,CAT 活性呈先上升后下降的趋势;MDA 含量和细胞膜透性则随着低温胁迫时间的延长呈上升趋势,这与前人已发表的结果相一致。低温处理 3 d 时,SOD、POD 和 CAT 活性上升,作物已经产生一定的抗低温性;而随胁迫时间的延长至处理 6 d 时,SOD 活性持续增加,而 CAT 活性则减弱到对照水平,同时 MDA 含量和膜透性电解质渗透率均大幅增加。说明随着胁迫时间的延长 SOD 活性持续增加,导致 H₂O₂ 的含量继续大幅增加,而处理 6 d 时 CAT 活性的下降导致活性氧清除系统失衡,使得 MDA 大量积累、膜透性增加。而低温胁迫下接种 AMF 可以显著提高番茄幼苗叶片 SOD、POD 和 CAT 活性,降低电解质渗透率,减少 MDA 的积累,有助于增强番茄的耐低温能力。

参 考 文 献

- [1] 张振贤. 蔬菜栽培学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003: 212-216
- [2] 王毅, 杨宏福, 李树德. 园艺植物冷害和抗冷性的研究——文献

- 综述[J]. 园艺学报, 1994, 21(3): 239-244
- [3] 刘润进, 陈应龙. 菌根学[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 289-316
- [4] 刘润进, 李晓林. 丛枝菌根及其应用[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 3: 98-146
- [5] Xian C Z, Feng B S, Hong W X. Arbuscular mycorrhizae improves low temperature stress in maize via alterations in host water status and photosynthesis[J]. *Plant Soil*, 2010, 331: 129-137
- [6] 朱先灿, 宋凤斌, 徐洪文. 低温胁迫下丛枝菌根真菌对玉米光合特性的影响[J]. *应用生态学报*, 2010, 21(2): 470-475
- [7] Paradis R, Dalpe Y, Charest C. The combined effect of arbuscular mycorrhizas and short-term cold exposure on wheat [J]. *New Phytologist*, 1995, 129: 637-642
- [8] 赵世杰, 李树林. VA 菌根促进韭菜增产的生理基础研究[J]. *土壤肥料*, 1993, (4): 38-40
- [9] 柏素花, 董超华, 刘新. VA 菌根菌抗冷菌株的筛选及其对茄子抗冷性的影响[J]. *中国农学通报*, 2006, 22(10): 272-276
- [10] Kormanik P P, McGraw A C. Quantification of VA mycorrhizae in plant roots [C]. *Methods and principles of mycorrhizal research*. St Paul Minnesota: The American Phytopathological Society, 1982: 37-45
- [11] Marion M, Bradford. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72(1): 248-254
- [12] 刘祖祺, 张石城. 植物抗性生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 369-85
- [13] Herth R L, Packer L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts I kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1986, 125: 189-198
- [14] Giannopltis C N, Ries S K. Purification and quantitative relationship with water soluble protein in seedling[J]. *Plant Physiology*, 1997, 59: 315-318
- [15] 曾韶西, 王以柔, 刘鸿先. 低温下黄瓜幼苗子叶硫氢基(SH)含量变化与膜脂过氧化[J]. *植物学报*, 1991, 33(1): 50-54
- [16] Dhindsa R S, Plumbdhindsa P, Thorpe T A. Leaf senescence correlated with increase levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels dismutase and catalase [J]. *Journal of Experimental Botany*, 1982, 32: 91-101
- [17] 吴强盛, 夏仁学. 水分胁迫下丛枝菌根真菌对枳实生苗生长和渗透调节物质含量的影响[J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2004b, 30(5): 583-588
- [18] 王丽娟, 李天来, 李国强, 等. 夜间低温对番茄幼苗光合作用的影响[J]. *园艺学报*, 2006, 33(4): 757-761
- [19] 高媛, 齐晓花, 杨景华, 等. 高等植物对低温胁迫的响应研究[J]. *北方园艺*, 2007, (10): 58-61
- [20] Charest C, Dalpe Y, Brown A. The effect of vesicular - arbuscular mycorrhizae and chilling on two hybrids of *zea mays* L[J]. *Mycorrhiza*, 1993, 4: 89-92
- [21] 武孟祥, 贾建兵, 张宇, 等. 植物低温保护剂对番茄幼苗抗寒力的影响[J]. *西北植物学报*, 1994, 14(5): 96-98
- [22] 张燕, 方力, 李天飞, 等. 低温胁迫下 PEG 对烟草幼苗膜脂过氧化作用的影响[J]. *西南农业大学学报*, 2001, 23(6): 549-552
- [23] Yons J M. Chilling injury in plants[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1973, 24: 445-466
- [24] 孙守如, 朱磊, 张菊平, 等. 低温胁迫对不同西葫芦品种幼苗生长与生理特性的影响[J]. *西北植物学报*, 2008, 28(11): 2292-2298
- [25] 林多, 杨延杰, 范文丽, 等. 低温对番茄幼苗叶片活性氧代谢的影响[J]. *辽宁农业科学*, 2001(5): 1-4
- [26] 马德华, 孙其信. 温度逆境对不同品种黄瓜幼苗膜保护酶系统的影响[J]. *西北植物学报*, 2001, 21(4): 656-661

(责任编辑: 王燕华)