

文章编号:1001-1498(2005)06-0717-05

外生菌根菌和植物生长物质复合制剂对杨树扦插苗生长及抗逆性的效应

梁 军, 屈智巍, 李忠宁, 贾秀贞, 张星耀*

(中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所,北京 100091)

摘要:通过扦插试验研究了由植物生长物质和树木菌根菌组成的复合制剂对 108 杨扦插苗成活率、苗高、地径、根茎比、菌根侵染率、毛根数、生物量、树体电容、叶绿素含量以及抗病性相关酶活性等指标的影响。发现复合制剂可以促进苗木的根系生长,苗木根系的毛根数、菌根侵染率及根茎比指标较对照有显著提高;可以促进苗木地上部分的生长发育,成活率、苗高、地径、生物量、叶绿素含量、长势等指标较对照均有显著提高;可以提高苗木的抗病能力,苗木的树皮相对膨胀度、过氧化物酶活性、多酚氧化酶活性及苯丙氨酸解氨酶活性较对照均有显著提高。经 IBA 溶液浸泡处理亦可有效提高苗木的生长,但整体效果不及复合制剂的最佳处理。初步确定了复合制剂的最有效成分配比及处理方法。

关键词:108 杨;扦插苗生长;杨树外生菌根菌;激素;酶活性;叶绿素

中图分类号:S723.1 **文献标识码:**A

The Effect of Compound Preparation Made by Ectomycorrhizal Fungus and Hormone on the Growth and Disease Resistance of Poplar Cuttings

LIANG Jun, QU Zhi-wei, LI Zhong-ning, JIA Xiu-zhen, ZHANG Xing-yao

(Research Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, CAF, Beijing 100091, China)

Abstract: The authors studied the effect of compound preparation made by ectomycorrhizal fungus and hormone on the growth and disease resistance of poplar cuttings. The results showed that the compound preparation could accelerate the growth of the poplar cuttings, because the amount of absorbing root, mycorrhizal infection rate and ratio of root and stem were enhanced. Meanwhile, the compound preparation could accelerate the growth of the other part of the cuttings, because the cutting survival rate, height, diameter, biomass, content of chlorophyll and capacitance were increased. Finally, the compound preparation could enhance the disease resistance of poplar cuttings, because the RT, activity of POD and polyphenolase and PAL were increased. The IBA solution could also accelerate the growth of cuttings, but the effect was not as good as that of compound preparation.

Key words: *Populus × euramericana* cv. 'Guariento'; growth of cuttings; ectomycorrhizal fungus; hormone; enzyme activity

根系作为树木的重要组织器官,对树木的生长发育、抗病以及抗环境胁迫能力有着重要的影

响,根系的健康状况直接决定了树木整体的健康状况。因此,如何提高树木根系的吸收功能和抗

收稿日期:2005-03-17

基金项目:国家林业局退耕还林工程科技支撑项目“保健控制苗圃病害技术研究”,国家科技部 863 课题“我国生态脆弱区域人工林重大灾害生态调控技术与产品研究”(2003AA249070);国家“十五”攻关课题“重大林木病虫害灾害的生态调控技术研究”(2003BA509B1002)。

作者简介:梁 军(1962—),男,宁夏中卫人,研究员,博士。

* 通讯作者

各种胁迫的能力是一项非常重要的研究。

为促进树木根系的生长发育,充分发挥根系的功能,人们利用了多种物质,如植物激素,各种肥料,树木菌根菌和土壤有益细菌等。植物激素可以刺激根系的生长,提高根系的活力^[1,2];肥料和保水剂可以在短期内改善土壤的营养和水分状况,提高林木的成活率;树木菌根菌与根系形成共生关系后,其有益作用较多,如可以提高根系对有机营养和水分的吸收能力,增强根系对于干旱等不利环境的适应力,增强树木树势和抗病力等^[3~9]。本试验重点研究了由植物生长物质和树木菌根菌配成的复合制剂对树木的影响,并初步确定了复合制剂的最有效成分配比。

1 材料与方 法

1.1 试验地及试验材料

试验地位于北京市海淀区屯佃乡,面积约0.06 hm²。试验地气候属温带湿润季风气候,年平均气温11.6℃,日照时数2 662 h,无霜期211 d,平均年降水量628.9 mm,降水分布不均匀,雨季主要集中在7、8、9三个月,雨热同期。试验地的土壤湿润肥沃,有机质含量为27.03 g·kg⁻¹,全N 1.42 g·kg⁻¹,全P 1.58 g·kg⁻¹,全K 31.07 g·kg⁻¹,土质为沙壤土。

供试菌根菌为美味牛肝菌(*Boletus edulis* Bull.)。菌剂自制,首先利用MMN培养基平板培养二级菌种,然后在菌剂基质(草炭土:蛭石:玉米面:红糖的质量比为150:50:9:1)上进行再扩大培养而成。

供试植物材料为108杨(*Populus × euramericana* cv. 'Guariento')。

1.2 试验方法

本实验采用随机区组实验设计,设6个处理,每处理3次重复,共设有18个小区,每个小区200穗,分5行,每行40穗,行距0.7 m,株距0.25 m。插穗长15~20 cm,扦插采用常规方法。

复合制剂的配制方法:将20 kg美味牛肝菌菌剂、20 g碳酸钠、20 g吲哚丁酸(IBA)和400 mL水混合并搅拌均匀即为复合制剂。

处理1:将复合制剂与水按1:2的比例充分溶解加入适量的轻壤土或粘土调成泥浆状,将插条下部5 cm蘸1 min后扦插;处理2:将复合制剂

与水按1:5的比例充分溶解加入适量的轻壤土或粘土调成泥浆状,将插条下部5 cm蘸1 min后扦插;处理3:将复合制剂与土按1:10的比例混合均匀,开沟扦插,施于沟底,每200穗施0.5 kg复合制剂;处理4:将复合制剂与土按1:10的比例混合均匀,开沟扦插,施于沟底,每200穗施2 kg复合制剂;处理5:IBA100 mmol·L⁻¹;浸泡插穗8 h后扦插;对照:清水蘸根,直接扦插。

1.3 测定指标及方法

测定扦插成活率,苗高,地径,菌根侵染率,毛根数,根茎比,生物量,树皮相对膨胀度,叶绿素a、b含量,叶绿素总含量,树体电容,多酚氧化酶活性,过氧化物酶活性,苯丙氨酸解氨酶活性。

1.3.1 扦插成活率、苗高、地径、根茎比、毛根数及生物量 成活率、苗高、地径、根茎比:根据中华人民共和国国家标准林业标准汇编(三)^[10]进行测定。测定时间为栽种后的第二年秋季。生物量:叶生物量,烘干法测定叶片的相对含水率,称量全部叶片的总质量,两者乘积为叶生物量;主根生物量,烘干法测定根部的相对含水率及主根系总质量,乘积为主根生物量;干生物量,从树干上截取5 g左右小木段测定其相对含水率,称量树干总质量,两者乘积即为干生物量;毛根数:采用目测法测定。毛根直径小于2 mm。

1.3.2 菌根侵染率和树皮相对膨胀度 采用目测法测定苗根侵染率,即抽样单株受侵染的菌根数占总根数的百分比。采用Bier法测定树皮相对膨胀度(RT)^[11],在树木胸径处取1 g左右的树皮,用1/1 000天平准确称得鲜质量,将树皮在蒸馏水中浸泡8 h取出并拭去表面水分后称取树皮饱和质量,在105℃下烘干至恒质量并称其干质量。RT的值采用下式计算:RT=(树皮鲜质量-树皮干质量)×100%/(树皮饱和质量-树皮干质量)。

1.3.3 树体电容 树体电容采用深圳华仪试验与测量仪表公司生产的MASTECHmy6243型数字电容仪测定。电极位置分别为离地面10 cm和130 cm处,且两电极处于同一垂直线上。南北方向各测一次取均值。

1.3.4 叶绿素a、b含量和叶绿素总含量 采用混合液法,据Arnon公式计算叶绿素含量^[12]。使用751紫外分光光度计。

$$\text{叶绿素 a 含量}(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{FW}^{-1}) = (12.7D_{663} - 2.69D_{645}) \times V \cdot (1\ 000 \times W)^{-1}$$

$$\text{叶绿素 b 含量}(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{FW}^{-1}) = (22.9D_{645} - 4.68D_{663}) \times V \cdot (1000 \times W)^{-1}$$

$$\text{叶绿素总含量}(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{FW}^{-1}) = (20.2D_{645} + 8.02D_{663}) \times V \cdot (1000 \times W)^{-1}$$

V:浸提的最终体积(mL);FW:叶片鲜重(g)

1.3.5 酶活性 过氧化物酶和多酚氧化酶的提取:取下枝条,放入冰箱冷冻5 min,取出后迅速削去周皮层,称取约0.1 g树皮,加5 mL预冷的磷酸缓冲液(pH值5.6),冰浴上研磨,4 000 r·min⁻¹离心,上清液即为提取液。过氧化物酶和多酚氧化酶活性测定参考魏益宁方法^[13]。过氧化物酶活性测定时,在试管中加3 mL 0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH值5.6),加提取液1 mL,加0.08 mol·L⁻¹愈创木酚1 mL,再加入0.25 mol·L⁻¹的H₂O₂ 0.4 mL,同时记时,在751紫外分光光度计上用波长470 nm,光程1 cm下读OD值,每10 s读取1次,记时3 min,重蒸馏水对照,以每克鲜质量每分钟OD值变化0.1为1个酶单位。多酚氧化酶活性测定时,在试管中加入0.1 mol·L⁻¹的磷酸缓冲液(pH值5.9)3.3 mL,原酶液0.2 mL,再加入0.08 mol·L⁻¹的邻苯二酚溶液1 mL,在751紫外分光光度计上波长400 nm,光程1 cm下读OD值,每10 s读取1次,记时3 min,重蒸馏水对照,以每克鲜质量每分钟OD值变化0.1为1个酶单位。苯丙氨酸解氨酶活性参照叶建仁等的方法^[9]进行提取和测定。取2~3 g树皮组织,在-15℃时冷冻固定,加适量预冷的丙酮冰浴研磨成匀浆,制成丙酮粉,用0.1 mol·L⁻¹硼酸缓冲液(pH值8.8)(内含抗坏血酸5 mmol·L⁻¹)加到丙酮粉中提取1 h,纱布过滤后,在4℃条件下10 000 r·min⁻¹离心30 min,弃沉淀,上清液为提取液,然后将1 mL提取液加入到4 mL内含0.02 mol·L⁻¹苯丙氨酸的0.1 mol·L⁻¹的硼酸缓冲液(pH值8.8)中,于30℃条件下反应3 h,反应液用乙醚提取,待乙醚挥发后,加5 mL浓度0.05 mol·L⁻¹的氢氧化钠进行溶解,然后用751紫外分光光度计在波长268 nm,光程1 cm下测定OD值。反应液根据所测得的OD值,在标准曲线上查出相应的肉桂酸浓度。苯丙氨酸解氨酶的活性是以每克鲜质量树皮中每小时苯丙氨酸解氨酶催化所形成的1 μg肉桂酸为1个酶活性单位。

1.3.6 取样方法 苗高、地径和树体电容三个指标全样测定。其它指标每个处理随机抽取5个样本进行测定。

1.4 统计分析方法

分析工具为SPSS-10.0;多重比较方法为Dun-

can法。

2 结果与分析

2.1 不同处理对苗木成活率、生长状况和菌根侵染的影响

2.1.1 不同处理对苗木成活率的影响 从表1可以看出,各处理的108杨扦插苗成活率比对照提高了7.05%~18.80%。其中处理1的扦插成活率最高,达到了83.61%,其次为处理2与处理5,两者的成活率大致相同,而处理3的成活率较低,只有75.74%。说明复合制剂能有效提高108杨扦插苗的成活率,特别是将复合制剂与水按1:2比例混合蘸根施用效果最好,而在IBA溶液长时间浸泡即处理5亦可有效提高苗木成活率。

2.1.2 不同处理对苗木的苗高、地径、根茎比和菌根侵染率的影响 各处理的108杨扦插苗的苗高和地径明显高于对照。从苗高指标看,处理1效果最明显,苗高比对照提高了11.16%。其次为处理2,较对照提高了9.30%。方差分析表明,处理1和处理2差异不显著,但两者均显著高于对照。从地径指标看,处理1、2、4和5的地径均较高,比对照提高了7.10%~8.88%,方差分析表明,以上4个处理间无显著差异。

在根茎比指标上,各处理均显著高于对照。效果最明显的是处理2,比对照增加了43.88%,但方差分析显示处理2与处理1、3、5无显著差异。

各处理可以有效地促进108杨扦插苗与外生菌根菌形成共生关系,各处理的菌根侵染率明显高于对照。其中效果最好的处理1和处理2,比对照提高了约4倍。方差分析结果表明,两者间无显著差异。其次为处理5,比对照提高了3倍多。

表1 不同处理对苗木成活率、生长状况、根茎比和菌根侵染的影响

处理	成活率/%	苗高/m	地径/cm	根茎比	菌根侵染率/%
对照	70.75	2.15 c	1.69 c	0.98 c	12.15 c
处理1	83.61	2.39 a	1.81 a	1.33 a	61.69 a
处理2	81.48	2.35 a	1.84 a	1.41 a	60.39 a
处理3	75.74	2.20 c	1.75 b	1.32 a	46.22 b
处理4	80.65	2.28 b	1.83 a	1.29 b	48.31 b
处理5	81.78	2.28 b	1.81 a	1.31 a	15.88 c

注:同列比较有相同字母表示差异不显著($P < 0.05$;下同)。

说明复合制剂可以有效地提高108杨扦插苗的苗高、地径、根茎比及菌根侵染率等指标。特别在菌根侵染率指标上,各处理较对照的提高幅度相对较

大,直接提高了根系的生长和发育以及功能的发挥,保障了地上部分各组织器官的发育。从表1中可以发现这一现象,即菌根侵染率高的处理,相应的成活率、苗高、地径和根茎比指标亦较高。

2.2 不同处理对扦插苗木根系发育及生物量的影响

2.2.1 不同处理对苗木毛根数的影响 由表2知,各处理的苗木毛根数显著高于对照。效果最明显的是处理1、处理2和处理5,比对照分别提高了44.77%、32.69%和29.79%,方差分析表明三者差异不显著。其次为处理3和处理4。说明复合制剂可以有效地刺激根系毛根生长,由于毛根是树木吸收水分和矿质营养的主要器官,因此毛根的数量对树木整体的发育影响很大。在IBA溶液中长时间浸泡也可以提高苗木的毛根数。

2.2.2 不同处理对苗木主根、叶和干生物量的影响

各处理的扦插苗木主根生物量显著高于对照。处理1的主根生物量最大,比对照增加了31.83%,其余处理之间则无显著差异,但显著低于处理1,显著高于对照。

表2 不同处理对苗木根系发育及生物量的影响

处理	毛根数/ (根·株 ⁻¹)	主根生物量/ (g·株 ⁻¹)	叶生物量/ (g·株 ⁻¹)	干生物量/ (g·株 ⁻¹)
对照	621 c	84.2 c	78.9 d	92.2 b
处理1	899 a	111.0 a	106.0 a	118.5 a
处理2	824 a	93.4 b	108.2 a	123.8 a
处理3	710 b	91.1 b	80.3 d	98.6 b
处理4	735 b	94.8 b	100.2 b	96.2 b
处理5	806 a	91.2 b	91.8 c	96.0 b

在叶生物量指标上,处理3与对照无显著差异,其余4个处理则显著高于对照。叶生物量最大的是处理2,比对照提高了37.14%,其次为处理1,比对照提高了34.35%,方差分析表明两者无显著差异。

对于干生物量指标,处理1和2显著高于对照,比对照分别高出28.52%和34.27%。而其它处理则与对照无显著差异。

以上结果说明复合制剂可以显著提高苗木的主根、叶和主干生物量。在表2中可以发现,毛根数量多的处理,其主根、叶和主干的生物量也较高,同时与表1比较发现,菌根侵染率和毛根数在各个处理上的变化规律基本是一致的。

2.3 不同处理对苗木树体电容、树皮相对膨胀度和叶绿素含量的影响

2.3.1 不同处理对苗木树体电容的影响 结果见表3。在电容指标上,处理2与对照的电容无显著差

异,其余各处理的树体电容均显著高于对照,提高幅度介于9.64%~25.30%。其中处理1效果最明显,树体电容值达到1.04 nF,其次为处理3,方差分析显示,处理1、3和5无显著差异。

树体电容在某种意义上反映了树木的长势以及健康状况,树体电容越大,树木的长势越好^[14]。以上结果说明复合制剂可以有效地提高树木的长势,特别是处理1,对树势的促进作用显著,这一结论在2.1和2.2中亦得到了印证,树势高的处理,树木的苗高、地径、根茎比、菌根侵染率、毛根数、生物量等指标也亦相对较高。IBA溶液长时间浸泡的处理亦可在一定程度上提高树势。

2.3.2 不同处理对苗木树皮相对膨胀度的影响

树皮相对膨胀度与杨树溃疡病抗病性呈正相关,树皮相对膨胀度越大则抗病性越强^[15]。方差分析表明,在树皮相对膨胀度指标上,处理3与对照无显著差异,其余处理均显著高于对照。效果最好的为处理1,较对照提高了19.63%;其次为处理5,较对照提高了16.04%,而处理2和处理4间无显著差异。

说明复合制剂可以有效地提高树皮相对膨胀度,从而增强抵御溃疡类病害的能力。

2.3.3 不同处理对苗木叶绿素含量的影响 从表3可以看出,各处理可以显著地提高苗木叶绿素a、b含量以及叶绿素总量。在叶绿素a指标上,效果最明显的是处理1,比对照增加了24.08%,其次为处理2、4和5,三者无显著差异。在叶绿素b指标上,效果最好的是处理1、4和5,较对照的增幅介于61.26%~72.25%,方差分析显示,三者无显著差异。在叶绿素总量指标上,处理1和5效果最好,比对照分别增加了28.76%和22.72%。

说明复合制剂可以有效地提高叶片叶绿素的含量,保证了树木生长过程中的碳同化量。

表3 不同处理对扦插苗木树体电容、树皮相对膨胀度和叶绿素含量的影响

处理	树体电容/ nF	树皮相对 膨胀度/%	叶绿素含量/(mg·g ⁻¹ ·FW ⁻¹)		
			a	b	总量
对照	0.83 c	72.33 d	0.897 c	0.191 d	1.109 d
处理1	1.04 a	86.53 a	1.113 a	0.312 a	1.428 a
处理2	0.86 c	81.06 c	0.969 b	0.262 b	1.219 c
处理3	0.98 a	73.31 d	0.908 c	0.249 c	1.215 c
处理4	0.91 b	78.61 c	0.958 b	0.329 a	1.287 b
处理5	0.97 a	83.93 b	0.979 b	0.308 a	1.361 a

2.4 不同处理对苗木抗病性相关酶活性的影响

过氧化物酶、多酚氧化酶和苯丙氨酸解氨酶是

与树木抗病性有关的三种重要的酶,其活性越高,树木抗病性也越强。从表4可以看出,各处理可以显著提高苗木体内三种酶的活性。在过氧化物酶指标上,处理1的酶活性最高,比对照增加13.77%,其次为处理2、3和4,方差分析表明四者间无显著差异。在多酚氧化酶和苯丙氨酸解氨酶活性指标上,处理1的效果最明显,在这两种酶活性上比对照分别增加285.22%和481.40%。说明复合制剂可以有效地提高108杨扦插苗体内与树木抗病性有关的三种酶的活性,在一定程度上保证了树木对外来病害的抵御能力。其中处理1的效果最好,三种酶活性均显著高于对照和其它处理。

表4 不同处理对苗木抗病性相关酶活性的影响

处理	酶活性/(酶活·g ⁻¹ ·min ⁻¹)		苯丙氨酸解氨酶活性 (μg内桂酸·g ⁻¹ ·h ⁻¹)
	过氧化物酶	多酚氧化酶	
对照	0.305 b	0.670 c	0.000 86 f
处理1	0.347 a	2.581 a	0.005 00 a
处理2	0.328 a	0.885 c	0.004 05 b
处理3	0.344 a	1.331 b	0.001 25 d
处理4	0.344 a	0.885 c	0.002 10 c
处理5	0.319 b	0.680 c	0.001 10 e

3 结论

用植物生长物质和树木菌根菌制成的复合制剂对108杨扦插苗的生长发育有着显著的影响,可归纳为以下几点:

(1)促进苗木根系的发育。机理在于复合制剂可以显著促进根系毛根(吸收根)的发育;形成菌根;提高了苗木的根茎比。复合制剂对菌根侵染率、毛根数和根茎比的促进作用是一致的,即菌根侵染率高的处理,毛根数和根茎比亦高。

(2)促进苗木地上部分的发育。表现在苗木的成活率、高、地径、生物量、叶绿素、长势等指标得到了提高。地上部分的发育与根系的发育是紧密相关的,菌根侵染率高的处理苗木的成活率、高、地径、生物量、叶绿素、长势等指标亦较高。

(3)增加苗木的抗病力。表现在苗木的树皮相

对膨胀度、过氧化物酶、多酚氧化酶和苯丙氨酸解氨酶活性等指标的提高。

(4)效果最好的是处理1,即将20 kg美味牛肝菌菌剂,20 g碳酸钠,20 g IBA和400 mL水的混合物与水按1:2的比例充分溶解加入适量的轻壤土或粘土调成泥浆状,将插条下部5 cm蘸1 min后扦插;其次为处理5和处理2。

(5)在IBA溶液中长时间浸泡后,对苗木的成活率、苗高、地径、根茎比、毛根数等指标亦有较明显的提高作用,但总体效果不及复合制剂处理1。

参考文献:

- [1] 邓建平,杨国顺. 生长调节剂对葡萄扦插生根效应的研究[J]. 湖南农业科学,2001,(1):26~27
- [2] 王华芳,孟庆英,田砚亭. 人工合成植物生长调节剂促进插条生根的研究现状[J]. 北京林业大学学报,1987,9(4):426~432
- [3] 花晓梅. 林木菌根研究[M]. 北京:中国科学技术出版社,1995
- [4] 赵志鹏,郭秀珍. 外生菌根真菌纯培养的生物学研究[J]. 林业科学研究,1989,2(2):136~140
- [5] 栾庆书,王淑清,吕晓红,等. 高效外生菌根菌复合菌剂的研究[J]. 辽宁林业科技,2003,(6):4~6
- [6] 吕全,雷增普. 外生菌根提高板栗苗木抗旱性能及其机理的研究[J]. 林业科学研究,2000,13(3):249~256
- [7] 徐大平,Bernie Dell,弓明钦,等. 施P肥和外生菌根菌接种对蓝桉林产量和养分积累的研究[J]. 林业科学研究,2004,17(1):26~35
- [8] 叶建仁,黄素红,李传道,等. 磷酸葡萄糖脱氢酶和苯丙氨酸解氨酶与抗松针褐斑病的关系[J]. 林业科学,1994,30(5):430~436
- [9] 中华人民共和国林业部科技司编. 林业标准汇编(三)[M]. 北京:中国林业出版社,1991:87
- [10] Bier J E. The relation of moisture to the development of canker disease caused by native facultative parasites 1. *Cryptodiapotha* canker on willow [J]. Canadian Journal of Botany,1959(37):229~239
- [11] 陈福明,陈顺伟. 混合液法测定叶绿素含量的研究[J]. 浙江林业科技,1984,4(1):19~23
- [12] 魏益宁. 毛白杨叶片受马格柵锈菌侵染后多酚氧化酶和过氧化物酶活性及同工酶谱带变化趋势的研究[J]. 北京林学院学报,1984,11(3):73~85
- [13] 李伟兴,周章仪,张俊楼,等. 探测树势的电测技术——电容法[J]. 广东林业科技,2002,18(1):19~24
- [14] 陈原,杨旺. 北京杨溃疡病抗病性的研究[J]. 北京林业大学学报,1994,16(2):51~57