

# 杜鹃花类菌根真菌对桃叶杜鹃幼苗光合性能及叶绿素荧光参数的影响

欧静<sup>1</sup> 何跃军<sup>1</sup> 刘仁阳<sup>1</sup> 陈训<sup>2\*</sup>

(1. 贵州大学 林学院 贵州 贵阳 550025)

(2. 贵州省科学院 贵州 贵阳 550001)

**摘要:** 【目的】研究 12 株杜鹃花类菌根(Ericoid mycorrhiza, ERM)真菌对 2 a 生桃叶杜鹃无菌实生幼苗促生效应及叶片叶绿素、光合参数和叶绿素荧光参数的影响。【方法】采用温室盆栽试验,ERM 真菌菌株由野生桃叶杜鹃根系分离而得。【结果】表明接种菌侵染率较高。接种处理间在幼苗地上部分、地下部分干重与总生物量指标呈极显著差异( $P<0.01$ )。与不接种对照相比,叶片中叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素含量、叶片净光合速率  $P_n$ 、叶片气孔导度  $G_s$  和叶片蒸腾速率  $T_r$  显著提高,而叶片胞间  $CO_2$  浓度  $C_i$  则降低。接种幼苗叶片中实际量子产量  $\Phi PS II$  除菌株 TY19、TY24 和 TY34 低于对照外,其余均显著增加;PS II 电子传递速率 ETR、PS II 最大光化学量子产量  $F_v/F_m$ 、潜在活性  $F_v/F_o$  和光化学淬灭 qP 均显著提高;非光化学淬灭 NPQ 除菌株 TY29 外其它均高于对照,并与对照差异极显著( $P<0.01$ )。 $\Phi PS II$  与  $P_n$ 、 $G_s$  的相关性大于  $F_v/F_m$ 、qP、NPQ;ETR 与  $F_v/F_m$ 、 $F_v/F_o$ 、NPQ、 $P_n$ 、 $T_r$  的相关性大于 qP 和  $G_s$ ;  $P_n$  与  $G_s$  的相关性大于  $T_r$ , 与  $C_i$  显著负相关( $P<0.01$ )。【结论】通过接种处理,提高了叶片光合性能及叶绿素荧光参数,增强了植株对有效光的利用,显著增加了幼苗生物量。从综合接种效应来看,TY18、TY29、TY35、TY02、TY07 和 TY12 是培育桃叶杜鹃菌根苗优良备选菌株。

**关键词:** 杜鹃花类菌根, 气体交换参数, 叶绿素荧光参数, 叶绿素, 桃叶杜鹃

基金项目: 贵州省农业科技攻关项目(No. 黔科合 NY 字[2011]3076 号)

\*通讯作者: Tel: 86-851-5812465; 信箱: chenxunke1956@163.com

收稿日期: 2013-01-06; 接受日期: 2013-02-18

# Effects of inoculation with different ERM isolates on photosynthesis and chlorophyll fluorescence parameter of *Rhododendron annae* Franch. seedlings

OU Jing<sup>1</sup> HE Yue-Jun<sup>1</sup> LIU Ren-Yang<sup>1</sup> CHEN Xun<sup>2\*</sup>

(1. College of Forest, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

(2. Guizhou Academy of Sciences, Guiyang, Guizhou 550001, China)

**Abstract:** [Objective] Twelve ericoid mycorrhiza (ERM) fungal strain isolates were used to inoculate 2-year-old ornamental *Rhododendron annae* Franch. sterile seedlings, plant growth, chlorophyll, photosynthetic parameters and chlorophyll fluorescence parameters in plant leaves were investigated. [Methods] Greenhouse pot experiments were conducted in this study to test the effect of 12 ERM strains which were isolated from the roots of wild *R. annae*. [Results] The results revealed that the colonization ratio was notably higher. There were substantial differences on the aboveground, underground part and total biomass index of inoculated seedlings compared with those of uninoculated seedlings ( $P < 0.01$ ). Compared with the control treatment, the chlorophyll a and b, total chlorophyll content, leaf net photosynthetic rate ( $P_n$ ), stomatal conductance ( $G_s$ ) and transpiration rate ( $T_r$ ) were higher significantly, along with the increase of intercellular  $CO_2$  concentration ( $C_i$ ). Practical quantum yield ( $\Phi PS II$ ) of inoculated seedlings' leaves were significantly higher than those of the uninoculated except strain TY19, TY24 and TY34; PS II electron transfer rate (ETR), PS II maximum photochemical quantum yield ( $F_v/F_m$ ), potential activity ( $F_v/F_o$ ) and photochemical quenching (qP) were significantly higher than those of the control plants. Non-photochemical quenching (NPQ) were higher as well, and the difference was very significant except strain TY29. The correlation of  $\Phi PS II$  and  $P_n$ ,  $G_s$  were significantly greater than those of  $F_v/F_m$ , qP and NPQ. The correlation of ETR  $F_v/F_m$ ,  $F_v/F_o$ , NPQ,  $P_n$  and  $T_r$  were greater than the qP and  $G_s$ . The correlation of  $P_n$  and  $G_s$  were greater than  $T_r$ , but it had significant negative correlation with  $C_i$  ( $P < 0.01$ ). [Conclusion] Through inoculation treatment, photosynthetic parameters and chlorophyll fluorescence parameters in plant leaves were improved, and meanwhile the effective use of light were enhanced. Thus, there were significant increases in seedling biomass. As for the comprehensive inoculation effects, TY18, TY29, TY35, TY02, TY07 and TY12 are the superior strains isolates to cultivate *R. annae* mycorrhizal seedlings.

**Keywords:** Ericoid mycorrhiza, Gas exchange parameters, Chlorophyll fluorescence parameters, Chlorophyll, *Rhododendron annae* Franch.

菌肥作为一种高效低耗的环保新肥成为持续研究的热点。许多木本植物接种菌根菌后能有效地提高植株光合速率并促进生物量的积累<sup>[1-3]</sup>, 从而促进了植物生长。叶绿素荧光在植物受到环境胁迫下对光合生理的影响具有较强的敏感性<sup>[4-6]</sup>, 因此被认为是一种公认的光合探针。近年来, 叶绿素荧光参数成为预测植物生长势的重要指标之一<sup>[7]</sup>。外生菌根与丛枝菌根的研究在我国已经成熟, 但菌根真菌侵入植物形成共生菌后, 植物叶绿素荧光参数如何变化的研究较少。高悦和吴小芹(2010)<sup>[8]</sup>研究了 6 种外生菌根菌接种 3 种松树, 明显提高了针叶的叶绿素含量及主要的荧光参数, 且各菌株与对照差异达显著水平。高山常绿杜鹃生长极慢, 其原因可能与该物种分布的生境特征有重要关联性, 也可能与根际微生物如菌根(Mycorrhiza)的形成有关。杜鹃花类菌根(Ericoid mycorrhiza, ERM)对杜鹃花类植物克服恶劣环境、加强养分吸收<sup>[9-11]</sup>和提高生长量<sup>[12-13]</sup>起着重要作用, ERM 在我国的研究才刚刚开始, 有关 ERM 对杜鹃花光合生理的影响鲜见报道。桃叶杜鹃(*Rhododendron annae* Franch.)为杜鹃花科杜鹃花属常绿灌木, 分布于贵州海拔 1 800–1 830 m 的高山地区, 花色丰富, 以粉红为主, 花期 5–6 月, 是一种观赏潜力很大的园林绿化树种。本文研究不同的真菌菌株对桃叶杜鹃生长、光合特性及叶绿素荧光参数的影响, 为菌根真菌促进幼苗生长光合生理机制提供理论依据, 并在探索该物种的 ERM 共生适应机理上具有重要的理论意义。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

**1.1.1 供试菌株:** 试验所采用的 12 个供试菌株分离自野生桃叶杜鹃根系中。真菌菌株的 rDNA ITS 区段的 PCR 扩增和测序引物为通用引物 ITS1

(5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')<sup>[14]</sup>。扩增产物经测序后(由北京诺赛基因组研究中心有限公司完成)提交至 GenBank<sup>[15]</sup>进行 BLAST 同源比对鉴定。分离菌株培养液为 PDA 培养基, 置于 28 °C 摇床上振荡(160 r/min)暗培养 15 d, 打碎并制成液体菌剂备用。

**1.1.2 供试苗木及培养基质:** 试验苗为实验室通过种子和土壤灭菌后培养的 2 a 生实生桃叶杜鹃苗。培养基质为腐殖质土, 采自百里杜鹃风景区桃叶杜鹃林下, 将土样分别装入采集袋中, 带回实验室, 仔细分检出树根、石粒等杂物, 风干, 磨碎。土壤理化性质试验结果: pH(水) 4.75, 有机质 44.10 g/kg, 全氮 1.54 g/kg, 全磷 0.163 g/kg, 碱解氮 268.52 mg/kg, 有效磷 7.00 mg/kg, 速效钾 205.96 mg/kg。

### 1.2 研究方法

**1.2.1 试验设计:** 接种与育苗试验。育苗基质经  $1 \times 10^5$  Pa 蒸汽灭菌 2 h, 自然冷却后继续 80 °C 烘 2 h。放置室温后装入花盆(规格 24 cm×16 cm×20 cm), 每个花盆装基质 3 kg, 每盆移植一株桃叶杜鹃幼苗。接种处理采用单因素完全随机设计, 试验设 13 个处理(含对照 CK), 每处理 30 盆, 3 次重复。幼苗上盆前用自来水冲洗干净后用 0.1% KMnO<sub>4</sub> 消毒 2 h, 然后用无菌水清洗 3 遍后置于处理菌液里浸泡 10 min, 以浸泡未接菌培养液对照。移栽 3 d 后每株苗根部各施入真菌液体菌剂 10 mL, 以浇未接菌培养液为对照, 以后每隔 7 d 浇一次菌液, 连续浇 3 次结束, 试验处理严格保证土壤微生物区系一致。接种后随机放置, 按照常规育苗方法进行管理。

**1.2.2 侵染率统计:** 每处理随机取 5 株幼苗根系共 30 根段, 每根段 8 mm 左右长进行菌根侵染观测, 采用酸性品红染色镜检法, 步骤采用 Komanik 等(1980)方法<sup>[16]</sup>: 洗根—透明—漂洗—

软化—酸化—染色—脱色, 3次重复。菌根侵染率(%)=(菌根侵染的根段长度/检测的根段总长度)×100。

**1.2.3 幼苗生物量测定:** 随机选择处理幼苗5株, 洗净根系土壤, 80℃、48h烘干至恒重, 称量测定烘干后的地下和地上部分生物量, 计算总生物量及菌根依赖性<sup>[17]</sup>, 3次重复。菌根依赖性 MD=(接种植株平均干重/对照植株平均干重)×100%。

**1.2.4 叶绿素荧光参数含量测定:** 采用基础型调制叶绿素荧光仪 JUNIOR-PAM (WALZ, 德国)于2012年8月10日上午8:00–11:00进行活体测定。测定时选取各处理菌根苗生长一致且受光方向相同, 生长完好, 无病虫害, 叶面积相近的第4片叶片, 测定初始荧光  $F_0$ 、最大荧光  $F_m$ 、可变荧光  $F_v$  ( $F_v = F_m - F_0$ )、实际量子产量  $\Phi_{PSII}$ 、表观电子传递速率 ETR、PS II 最大光化学量子产量(即最大光化学活性)  $F_v/F_m$ 、PS II 潜在活性  $F_v/F_0$ 、光化学淬灭 qP、非光化学淬灭 NPQ。其中  $F_0$ 、 $F_m$ 、 $F_v/F_m$  测定前将叶片暗适应 20 min。每测量指标重复6株, 每株固定1片叶片。

**1.2.5 气体交换参数的测定:** 选择叶片与重复数同前, 于2012年8月11日上午8:00–11:00, 使用 LI-6400 (LI-Cor., 美国)便携式光合测定仪测定桃叶杜鹃菌根苗叶片的净光合速率( $P_n$ )、蒸腾速率( $T_r$ )、气孔导度( $G_s$ )、胞间  $CO_2$  浓度( $C_i$ )。测定时叶室配备 LED 红蓝光源, 光量子通量密度(PFD)为 1 000  $\mu\text{mol}/(\text{m}\cdot\text{s})$ ,  $CO_2$  浓度为 400  $\mu\text{mol}/\text{mol}$ , 温度为 27℃。

**1.2.6 叶绿素含量测定:** 80%丙酮浸提法测定<sup>[18]</sup>。每个指标3个重复。

### 1.3 数据处理

数据使用 Excel 2003 记录及绘图, 使用 SPSS 11.5 软件进行统计分析, 采用单因素方差分析(One-way ANOVA)和 Duncan 多重比较法分析不同菌株对苗木各项生长、生理指标进行方差

检验( $P=0.01$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌根真菌 BLAST 同源比对结果

菌根真菌 rDNA-ITS PCR 扩增产物经测序后提交至 GenBank 进行 BLAST 同源比对。经比对, 初步确定本试验的 12 个菌株中的 11 个菌株可能分别为 6 个不同的真菌种(表 1), 菌株 TY18 未能获得比对结果。

### 2.2 不同 ERM 菌株接种桃叶杜鹃幼苗菌根侵染率

从图 1 可以看出, 接种苗菌根侵染率达到 45.04%–74.14%。

### 2.3 不同 ERM 菌株接种桃叶杜鹃幼苗菌根依赖性差异及对生物量的影响

从图 2 可知, 接种苗的依赖性均大于 100%, 最高达到 161%。相关性分析得知, 侵染率与依赖性呈极显著正相关关系( $r=0.901^{**}$ ), 验证了真菌的侵染是产生菌根效应的生物学基础<sup>[19]</sup>。从图 3 可以看出, 接种苗幼苗的地上部分、地下部分干重与总生物量均较对照提高。菌株接种对幼苗的地上部分干重影响大于地下部分干重。总生物量除 TY07 和 TY41 外, 其余菌株处理均与对照差异极显著( $P<0.01$ ), 接种苗生物量比对照增长了 1.039–1.612 倍。不同菌株对桃叶杜鹃根系亲和力的差异性, 反映出宿主对各菌根菌株的不同依赖性<sup>[2]</sup>。TY18、TY29、TY35、TY02、TY07、TY12 等菌株对幼苗的促生效应较大。

### 2.4 不同 ERM 菌株接种对桃叶杜鹃叶片光合色素的影响

叶绿素是植物光合作用过程中主要吸收光能的物质色素, 直接影响植物光合作用的光能利用<sup>[20]</sup>。不同菌株处理后桃叶杜鹃幼苗叶片叶绿素含量不同(图 4–7)。接种苗叶片中叶绿素 a 含量均高于对照, 增加倍数为 1.647–2.331, 且与对照差

表 1 桃叶杜鹃菌根真菌 rDNA-ITS 序列 BLAST 结果

Table 1 BLAST results of mycorrhizal rDNA internal transcribed spacer sequences of *Rhododendron annae*

菌株编号 Code	亲缘关系最近的种 Species of closest match	亲缘关系最近种的 GenBank 登录号 GenBank accession No. of closest match	序列相似度 Sequence identity (%)
TY02	<i>Ascomycete</i> sp.	AJ279484	97
TY07	<i>Pochonia bulbillosa</i>	AB378554	99
TY12	<i>Ascomycete</i> sp.	AJ279484	97
TY14	<i>Helotiales</i> sp.	AB598096	94
TY18	—	—	—
TY19	<i>Cryptosporiopsis ericae</i>	AB369417	98
TY21	<i>Cryptosporiopsis ericae</i>	AB369417	99
TY24	<i>Ascomycete</i> sp.	AJ279484	97
TY29	<i>Trametes ochracea</i>	AB158314	99
TY34	<i>Calluna vulgaris</i> root associated fungus	FM172846	99
TY35	<i>Pochonia bulbillosa</i>	AB378554	99
TY41	<i>Cryptosporiopsis ericae</i>	AB369417	99

注: TY18 未能扩增出来, 为未知菌株。

Note: TY18 failed to amplify and is an unknown strain.

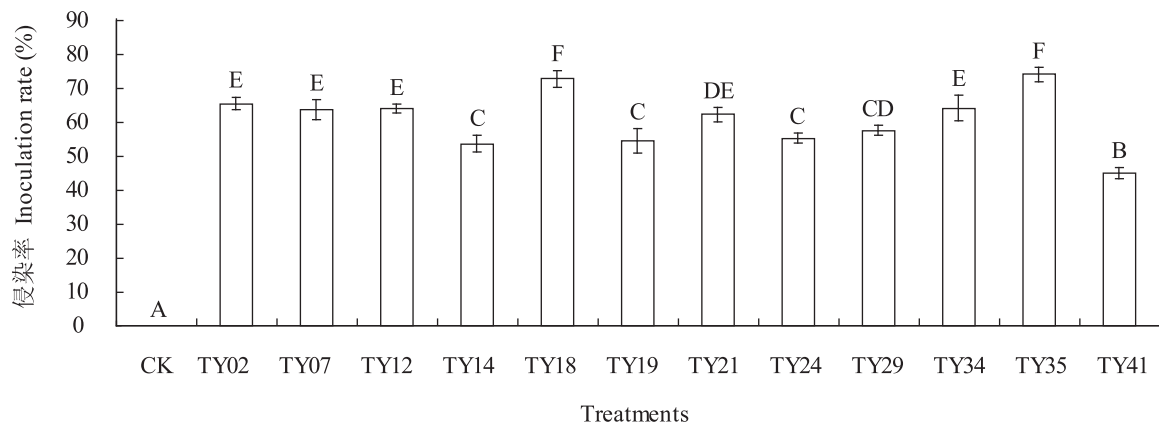


图 1 不同 ERM 菌株接种桃叶杜鹃幼苗的菌根侵染率

Fig. 1 Mycorrhizal colonization rate in *Rhododendron annae* inoculated with different strains of ericoid mycorrhizae

注: CK: 未接种. 柱状图上端不同大写字母表示差异达到极显著水平( $P < 0.01$ ). 下同.

Note: CK: Non ericoid mycorrhiza fungi inoculation. Data with different capital letters are highly significantly different on the column top ( $P < 0.01$ ). The same below.

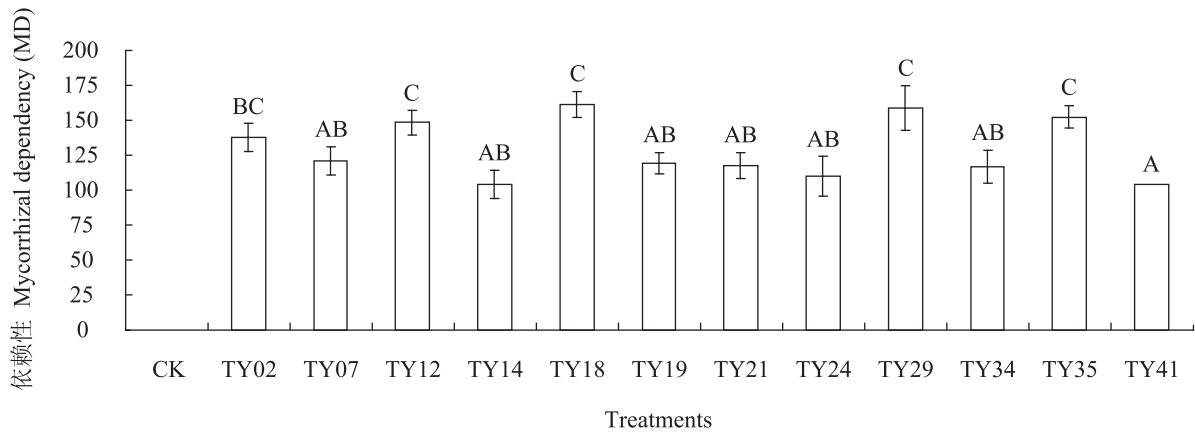


图2 不同ERM菌株接种桃叶杜鹃幼苗的菌根依赖性

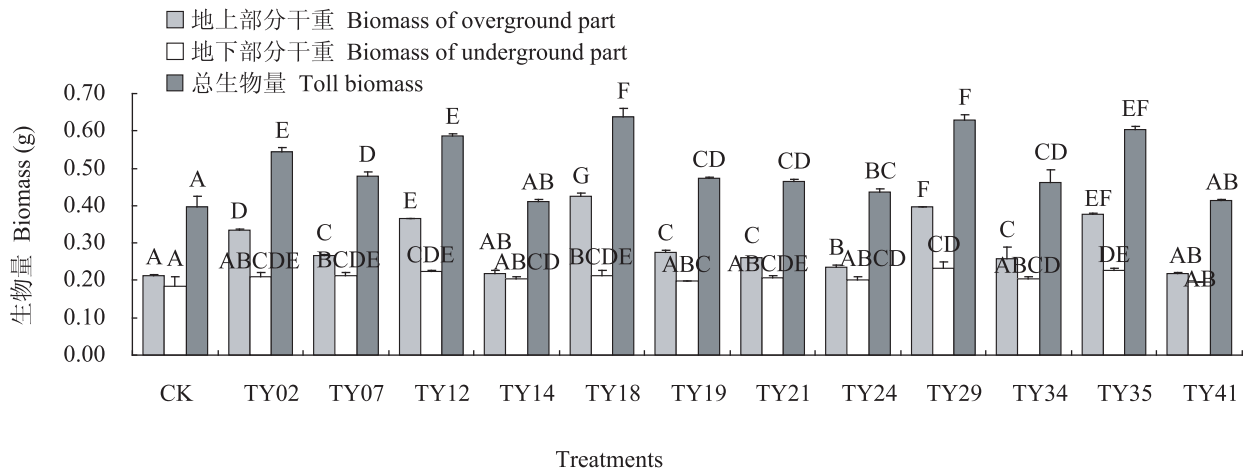
Fig. 2 Mycorrhizal dependency in *Rhododendron annae* inoculated with different strains of ericoid mycorrhizae

图3 不同ERM菌株处理对桃叶杜鹃幼苗生物量的影响

Fig. 3 Effect of biomass in *Rhododendron annae* inoculated with different strains of ericoid mycorrhizae

异极显著( $P < 0.01$ )。菌根幼苗叶片叶绿素 b 含量均高于对照, 增加倍数为 1.545–2.969, 且与对照差异极显著( $P < 0.01$ )。不同菌根总叶绿素均高于对照, 增加倍数为 2.430–1.713, 且与对照差异极显著( $P < 0.01$ )。菌株 TY14、TY24、TY34 和 TY41 处理幼苗叶片叶绿素 a/b 高于对照, 其它菌株处理叶绿素 a/b 含量低于对照。叶绿素含量是反映植物光合能力的一个重要指标<sup>[21]</sup>, 叶绿素含量越高表明幼苗对光的利用率越强, 桃叶杜鹃幼苗接种后叶绿素的增加

有利于捕获光能, 叶绿素 a/b 含量低于对照说明接种后幼苗叶片叶绿素 b 的增长大于叶绿素 a 的增长。

### 2.5 不同ERM菌株接种对桃叶杜鹃幼苗叶片气体交换参数的影响

从图8–11可以看出, 不同菌株接种桃叶杜鹃幼苗叶片净光合速率  $P_n$  除 TY21 外均高于对照, 且差异极显著( $P < 0.01$ )。叶片蒸腾速率  $T_r$ 、叶片气孔导度  $G_s$  均高于对照。叶片胞间  $CO_2$  浓度  $C_i$  均低于对照。

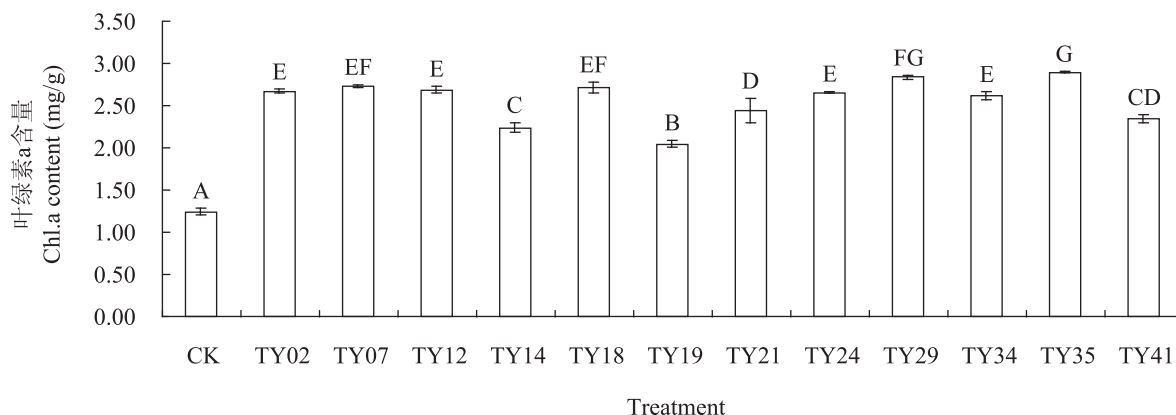


图 4 不同 ERM 菌株处理对桃叶杜鹃叶片叶绿素 a 含量的影响

Fig. 4 Effect of inoculation with different ericoid mycorrhizal strains on chlorophyll a content of *Rhododendron annae* leaves

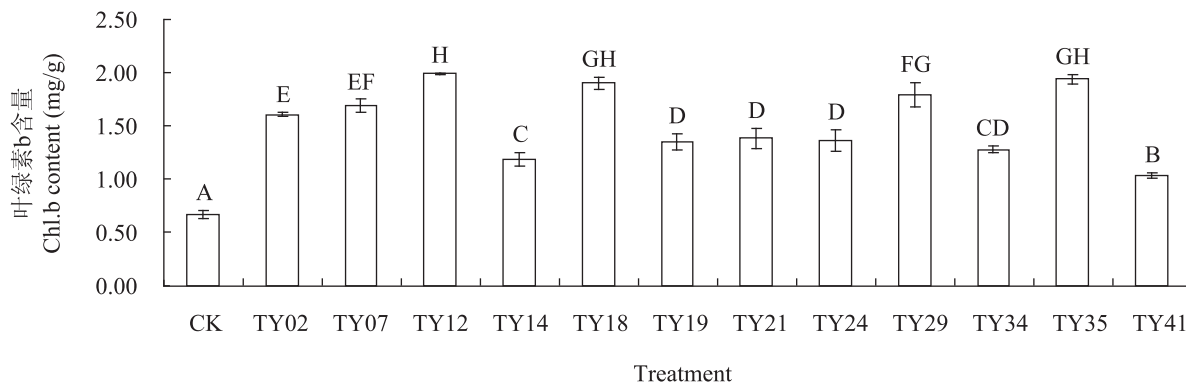


图 5 不同 ERM 菌株处理对桃叶杜鹃叶片叶绿素 b 含量的影响

Fig. 5 Effect of inoculation with different ericoid mycorrhizal strains on chlorophyll b content of *Rhododendron annae* leaves

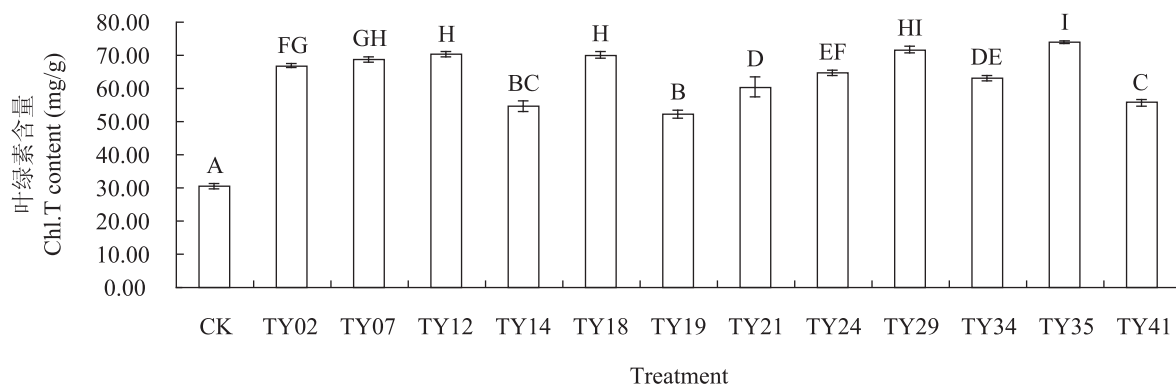


图 6 不同 ERM 菌株处理对桃叶杜鹃叶片叶绿素含量的影响

Fig. 6 Effect of inoculation with different ericoid mycorrhizal strains on chlorophyll content of *Rhododendron annae* leaves

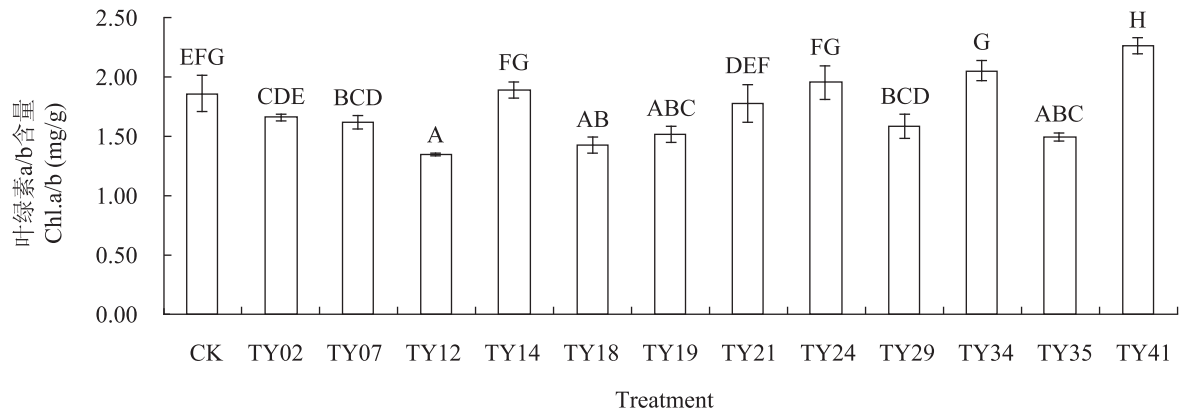


图 7 不同 ERM 菌株处理对桃叶杜鹃叶片叶绿素 a/b 含量的影响

Fig. 7 Effect of inoculation with different ericoid mycorrhizal strains on chlorophyll a/b content of *Rhododendron annae* leaves

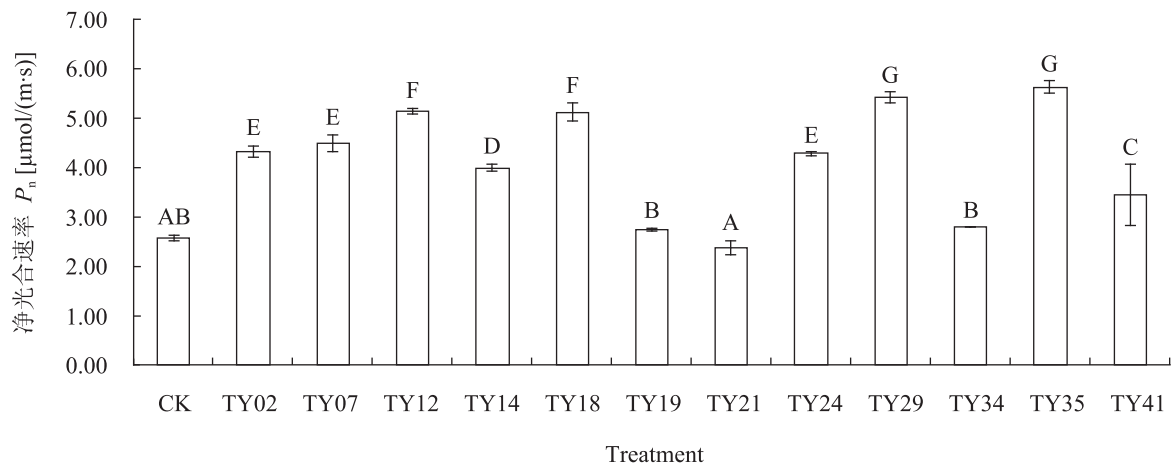


图 8 不同 ERM 菌株处理对桃叶杜鹃叶片净光合速率的影响

Fig. 8 Effect of inoculation with different ericoid mycorrhizal strains on net photosynthesis rate of *Rhododendron annae* leaves

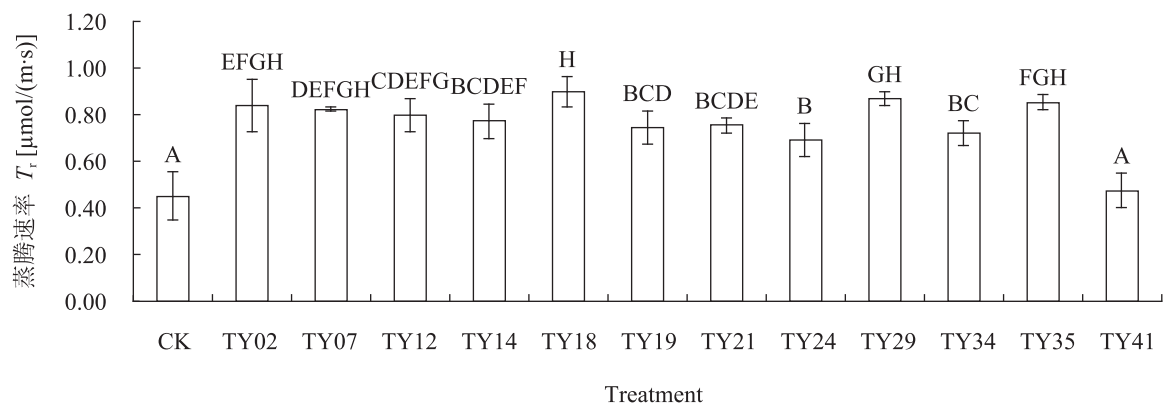


图 9 不同 ERM 菌株处理对桃叶杜鹃叶片蒸腾速率的影响

Fig. 9 Effect of inoculation with different ericoid mycorrhizal strains on transpiration rate of *Rhododendron annae* leaves



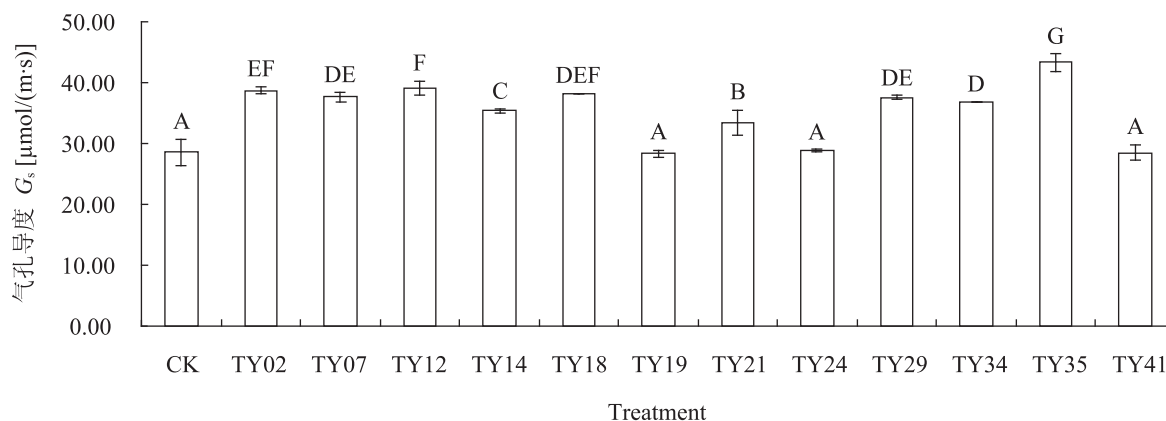
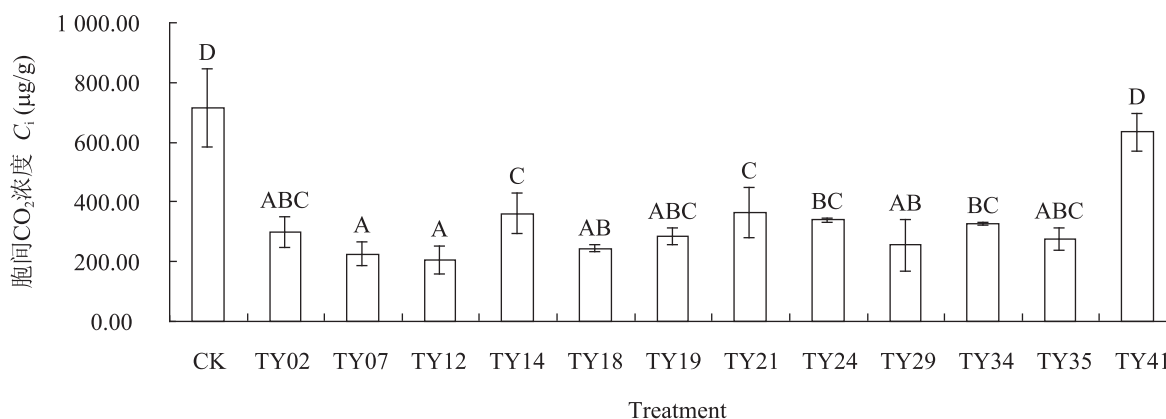


图 10 不同 ERM 菌株处理对桃叶杜鹃叶片气孔导度的影响

Fig. 10 Effect of inoculation with different ericoid mycorrhizal strains on stomatal conductance of *Rhododendron annae* leaves图 11 不同 ERM 菌株处理对桃叶杜鹃叶片胞间 CO<sub>2</sub> 浓度的影响Fig. 11 Effect of inoculation with different ericoid mycorrhizal strains on intercellular CO<sub>2</sub> concentration of *Rhododendron annae* leaves

## 2.6 不同 ERM 菌株接种对桃叶杜鹃幼苗叶片叶绿素荧光参数的影响

不同菌株接种对桃叶杜鹃幼苗叶片叶绿素荧光主要参数  $\Phi_{PSII}$ 、ETR、 $F_v/F_m$ 、 $F_v/F_o$ 、qP、NPQ 的影响情况见表 2。

桃叶杜鹃菌根苗  $\Phi_{PSII}$  除菌株 TY19、TY24 和 TY34 低于对照外, 其余均极显著高于对照 ( $P < 0.01$ )。较高的  $\Phi_{PSII}$  值, 有利于提高光能转化效率, 为暗反应的光合同化积累更多所需的能量, 以促进碳同化的高效运转和有机物的积累<sup>[22]</sup>。接种真菌提高桃叶杜鹃幼苗叶片的  $\Phi_{PSII}$ , 说明

菌根苗能提高叶片的实际光化学效率, 有效提高原初光能捕获效率, 进而为光合碳同化提供充足的还原力。试验表明不同的菌株对  $\Phi_{PSII}$  的影响是不一样的,  $\Phi_{PSII}$  值越大, 说明叶片的实际光化学效率越高, 菌株 TY35 处理苗的叶片  $\Phi_{PSII}$  最大, 比对照提高 79.93%。

ETR 能明显地表明 PS II 利用光能的能力。不同菌根桃叶杜鹃幼苗叶片的 PS II 电子传递速率 ETR 均比对照提高, 且差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

PS II 的最大量子产量  $F_v/F_m$  值常用于度量植物叶片 PS II 原初光能转换效率, 它反映 PS II 反

应中心内禀光能转换效率,即反映植物的潜在最大光合能力。菌根幼苗叶片的  $F_v/F_m$  均高于对照,除 TY21 和 TY34 外其余菌株与对照差异极显著 ( $P<0.01$ ); 从增长幅度来看, TY35 处理幼苗叶片  $F_v/F_m$  增长最大,比对照增加了 56.88%; 其次为 TY18,比对照增加了 53.27%; TY24 增加的幅度也较高,比对照增加了 39.73%; 其它菌株增加值在 5.64%–20.00%之间。较高的  $F_v/F_m$  值说明菌根苗可能将叶片所吸收的光能有效地转化为化学能,以提高光合电子传递速率,形成更多的 ATP 和 NADPH,为光合碳同化提供充分的能量和还原力。

PS II 潜在活性  $F_v/F_o$  反映经过 PS II 的电子传递情况。菌根幼苗叶片的  $F_v/F_o$  除菌株 TY21 和 TY34 外均高于对照; 从增长幅度来看,菌株 TY12、TY18、TY29、TY35 增长较大,增长幅度在 58.00%–83.99%之间 ( $P<0.01$ )。

光化学淬灭 qP 反映了植物光合活性的高低,

qP 值的大小反映的是原初电子受体 QA 的氧化性,值越大说明电子传递活性越大。非光化学淬灭 NPQ 反映了植物耗散过剩光能为热的能力。从表 2 中可以看出,菌根幼苗叶片的光化学淬灭 qP 均大于对照,除菌株 TY19、TY21、TY24 外,其它菌株与对照差异极显著 ( $P<0.01$ ); 菌株 TY35 增加最大,是对照的 3.31 倍。不同菌根幼苗叶片的非光化学淬灭 NPQ 除菌株 TY29 外,其它菌株处理的 NPQ 均高于对照。

## 2.7 不同 ERM 菌株处理桃叶杜鹃叶片光合特征参数及叶绿素含量的相关分析

从表 3 可以看出,  $\Phi PS II$  与  $P_n$ 、 $G_s$  的相关性大于  $F_v/F_m$ 、qP、NPQ。ETR 与  $F_v/F_m$ 、 $F_v/F_o$ 、NPQ、 $P_n$ 、 $T_r$  的相关性大于 qP、 $G_s$ 。 $P_n$  与  $G_s$  的相关性大于  $T_r$ ,与  $C_i$  显著负相关 ( $P<0.01$ )。Chl.a 与 Chl.b 和 Chl.T 三者极显著正相关,与 Chl.a/b 极显著负相关 ( $P<0.01$ )。

表 2 不同 ERM 菌株对桃叶杜鹃幼苗叶片叶绿素荧光参数的影响(平均值±标准差)  
Table 2 Effects of different strains isolates on the contents of chlorophyll II fluorescence parameters in leaves of *Rhododendron anaë* seedlings ( $\bar{x}\pm s$ )

处理 Treatment	实际量子产量 Actual photo-chemical efficiency of PSII ( $\Phi PS II$ )	表观电子传递速率 Linear electron transport rate (ETR)	PS II 最大光化学量子产量 Maximal photo-chemical efficiency of PS II ( $F_v/F_m$ )	PS II 潜在活性 Potential activity of PS II ( $F_v/F_o$ )	光化学淬灭 Photochemical quenching (qP)	非光化学淬灭 Non-photochemical quenching (NPQ)
CK	0.294±0.03BC	17.343±1.57A	0.443±0.08A	1.274±0.38ABC	0.335±0.1A	0.620±0.06A
TY02	0.308±0.01CD	38.242±1.61C	0.535±0.05BCD	1.293±0.24ABC	0.784±0.03BCD	0.725±0.06BC
TY07	0.385±0.01F	47.708±2.78D	0.578±0.04CD	1.374±0.21ABC	0.813±0.03CD	0.833±0.03D
TY12	0.386±0.01F	46.650±2.97D	0.537±0.07BCD	2.344±0.23D	0.862±0.07D	0.849±0.03D
TY14	0.385±0.01F	35.817±2.22C	0.587±0.06CD	1.744±0.61BCD	0.769±0.05BCD	0.710±0.06BC
TY18	0.387±0.01F	61.013±2.70F	0.679±0.05E	2.090±0.54D	0.831±0.07CD	0.832±0.029D
TY19	0.250±0.01A	45.017±2.76D	0.551±0.04BCD	1.748±0.51BCD	0.760±0.04ABC	0.747±0.03C
TY21	0.310±0.01CD	24.915±0.66B	0.519±0.03ABC	0.937±0.29A	0.755±0.01ABC	0.649±0.04AB
TY24	0.268±0.01AB	46.145±1.67D	0.619±0.04DE	2.282±0.212D	0.705±0.07AB	0.688±0.07ABC
TY29	0.344±0.00E	46.950±1.06D	0.580±0.06CD	2.013±0.33D	0.777±0.07BCD	0.614±0.01A
TY34	0.248±0.04A	38.042±1.14C	0.468±0.04AB	1.341±0.32ABC	0.766±0.05BC	0.712±0.08BC
TY35	0.529±0.04G	57.228±2.02E	0.695±0.03E	1.850±0.42CD	1.109±0.08F	0.865±0.03D
TY41	0.337±0.02DE	34.708±4.88C	0.586±0.06CD	1.110±0.38AB	0.759±0.04B	0.649±0.04AB

注: 同列不同大写字母表示差异达到极显著水平 ( $P<0.01$ )。

Note: Data with different capital letters are highly significantly different on the same column ( $P<0.01$ ).

表 3 桃叶杜鹃叶片光合特征参数及叶绿素含量的相关分析表  
Table 3 Correlation analysis of photosynthetic characteristic parameters and chlorophyll content in leaves of *Rhododendron annae* seedlings

Parameters	ΦPSII	ETR	$F_v/F_m$	$F_v/F_o$	qP	NPQ	$P_n$	$T_r$	$G_s$	$C_i$	Chl.a	Chl.b	Chl.T	Chl.a/b
ΦPSII	1.000													
ETR	0.511	1.000												
$F_v/F_m$	0.677*	0.809**	1.000											
$F_v/F_o$	0.263	0.688**	0.510	1.000										
qP	0.568*	0.642*	0.334	0.454	1.000									
NPQ	0.617*	0.733**	0.521	0.426	0.809**	1.000								
$P_n$	0.715**	0.791**	0.722**	0.686**	0.627*	0.554*	1.000							
$T_r$	0.412	0.714**	0.494	0.445	0.831**	0.576*	0.639*	1.000						
$G_s$	0.699**	0.559*	0.375	0.250	0.845**	0.635*	0.703**	0.775**	1.000					
$C_i$	-0.280	-0.740**	-0.420	-0.533	-0.816**	-0.637*	-0.577*	-0.938**	-0.663*	1.000				
Chl.a	0.677*	0.810**	0.595*	0.567*	0.926**	0.760**	0.819**	0.886**	0.847**	-0.830**	1.000			
Chl.b	0.801**	0.821**	0.779**	0.360	0.696**	0.788**	0.730**	0.620*	0.715**	-0.515	0.811**	1.000		
Chl.T	0.797**	0.778**	0.792**	0.294	0.613*	0.754**	0.693**	0.543	0.654*	-0.421	0.742**	0.991**	1.000	
Chl.a/b	-0.552	-0.706	-0.497	-0.243	-0.666*	-0.743**	-0.602*	-0.611*	-0.746**	0.506	-0.705**	-0.841**	-0.831**	1.000

注: \*: 差异达到显著水平( $P<0.05$ ); \*\*: 差异达到极显著水平( $P<0.01$ ).

Note: \*: Significantly different ( $P<0.05$ ). \*\*: Highly significantly different ( $P<0.01$ ).

### 3 讨论

光合作用是判断植物生长和抗逆性强弱的重要指标<sup>[23]</sup>。叶绿素荧光分析技术可作为菌根处理对植物光合作用影响因素的评价条件之一<sup>[8]</sup>。PS II 电子传递速率 ETR 能明显地表明 PS II 利用光能的能力, 桃叶杜鹃接种后幼苗叶片 ETR 的增长说明真菌接种显著地提高了幼苗利用光能的能力。低温和强光胁迫可导致  $F_v/F_m$  下降<sup>[4,24-25]</sup>, 本研究中桃叶杜鹃未接种移栽苗可以认为是一种胁迫处理, 这种人为胁迫导致  $F_v/F_m$  与  $F_v/F_0$  低于接种苗, 与上述前人研究相似。通过相关性分析表明, 接种桃叶杜鹃菌根苗 ETR 与 PS II 的最大量子产量  $F_v/F_m$ 、PS II 潜在量子产量  $F_v/F_0$  呈极显著正相关( $P<0.01$ ), 因此 ETR 增加的原因可能是接种苗  $F_v/F_m$  与  $F_v/F_0$  的增加所引起的。也有研究指出  $F_v/F_m$  在渗透胁迫下增加, 从而导致 ETR 下降的相反结论<sup>[26]</sup>, 认为可能是植物在受到某种胁迫(如干旱)后会产生适应过程, 其本身的光合作用系统进行自我修复的结果。

光化学淬灭 qP 的增加有利于提高  $\Phi$ PS II 原状态和 PS II 开放中心的数目<sup>[27]</sup>, 它的值越大反映中心开放部分的比例越大, 能将更多的光能用于推动光合电子传递, 提高光合电子传递能力。本研究结果表明不同桃叶杜鹃菌根苗除菌株 TY19、TY21 和 TY24 外, 叶片的 qP 显著高于对照。热耗散可以防御过剩光能的破坏<sup>[25]</sup>, 也就是说, PS II 可以通过提高非辐射性热耗散, 消耗 PS II 吸收的过剩光能, 从而保护 PS II 反应中心免受吸收过多光能而引起的光氧化伤害, 这实质上是一种保护机制<sup>[28]</sup>。桃叶杜鹃幼苗接种菌株后, 除菌株 TY29 外, 叶片 NPQ 比对照显著提高, 表明 PS II 的潜在势耗散能力增强, 能有效地避免或减轻因 PS II 吸收过多光能对光合机构的破坏。有文章报道, 不同环境中、不同树种之间, qP 与

NPQ 呈极显著正相关<sup>[29]</sup>, 也有呈负相关<sup>[6,26]</sup>, 其原因可能是过剩光能的耗散机制发生了变化, 其机理有待于进一步研究<sup>[6]</sup>。本研究中, qP 与 NPQ 呈极显著正相关( $P<0.01$ ), 原因可能与叶绿素含量的贡献率有关。桃叶杜鹃幼苗接种菌株后叶片叶绿素含量极显著高于对照, a/b 含量极显著低于对照, 叶绿素含量越高表明更有利于捕获光能和对光的利用, 叶绿素 a/b 含量低于对照说明叶绿素 b 的增加大于叶绿素 a。叶绿素 b 主要吸收蓝紫光, 而蓝紫光量子所持的能量大于红光所持有的, 这样, 植株第一单线态与第二单线态(即激发态)拥有的量子就多<sup>[30]</sup>, 热形式与光形式消耗的能量也就增多, 因此, 本研究中叶绿素 b 的增加可能是 qP 和 NPQ 增加的原因之一。赵昕等<sup>[3]</sup>报道了喜树幼苗接种 AM 真菌其叶片叶绿素 a/b 显著高于无菌根幼苗, 与本文研究相反, 但接种对幼苗的 qP 和 NPQ 影响不确定, 这可能与不同植物对光强的响应和菌根真菌类型不同从而对光合色素的化学特性影响不同有关。

桃叶杜鹃菌根幼苗叶片  $P_n$ 、 $T_r$ 、 $G_s$  极显著增长,  $C_i$  极显著低于对照。经过相关性分析,  $P_n$  与  $G_s$  的正相关显著性大于  $T_r$ , 因此, 引起叶片  $P_n$  差异其中一个原因可能是由于  $G_s$  的不同造成的, 气孔行为可能是桃叶杜鹃菌根苗光合作用碳固定的控制因素之一。导致  $G_s$  升高的原因可能是菌根苗体内激素调节了气孔开关<sup>[31]</sup>或者是真菌加强了水分和其它营养成分的吸收与转动, 从而有利于菌根苗的气体交换<sup>[32]</sup>。由于  $P_n$  与  $G_s$  增加的同时,  $C_i$  却在下降, 所以在接种处理下, 气孔限制不是导致光合作用上升的主导作用。通过相关性分析得知,  $\Phi$ PS II 和 ETR 分别与  $P_n$  呈极显著正相关( $P<0.01$ ), 因此  $\Phi$ PS II 和 ETR 的增长可能是共同导致  $P_n$  非气孔限制因素增长的原因之一。一般情况下, 叶绿素含量增加,  $P_n$  同样会增长<sup>[1,32-33]</sup>, 本文中 Chl.a、Chl.b 和 Chl.T 与  $P_n$  极显著正相关

( $P < 0.01$ ), 印证了叶绿素含量增加是  $P_n$  增长的另一个非气孔限制因素。同时说明了不同的菌种对叶绿素贡献上存在差异, 进而反映在接种处理的光合水平上。 $P_n$  与  $C_i$  显著负相关的原因可能是未接种菌株处理的植株在光合速率下降的情况下, 启动吸收更多的  $CO_2$  来维持碳固定的保护机制。

通过接种苗生物量及提高叶绿素荧光参数等数据分析, TY35、TY18、TY29、TY12、TY02、TY07 等菌株较大地提高了桃叶杜鹃幼苗的生物量及对有效光的吸收与利用。这 6 个菌株分别为 4 个或 5 个不同菌种(其中促进接种苗生物量较大的菌株 TY18 未能比对照), 不同真菌种和同一真菌种不同菌株对桃叶杜鹃幼苗的促生效应、光合性能及叶绿素荧光对数的影响均表现出显著差异, 这说明优良菌种及菌株的选择是关键和有意义的。如果在下一步的胁迫抗逆试验中 TY18 仍表现较优, 则有必要通过特异性引物扩增 ITS 区段和采用变性梯度凝胶电泳技术(DGGE)对其进行研究<sup>[34]</sup>。

## 4 小结

接种对桃叶杜鹃幼苗叶片的叶绿素参数影响极显著。幼苗接种菌根真菌提高了叶片的叶绿素含量, 将吸收到的光能有效地集中到反应中心色素, 进而增强了光合性能, 光合速率、电子传递速率和光能转化效率, 促进了碳同化的高效运转和有机物的积累, 然后通过植株生物量的增长表达, 最终促进植株生长。菌根接种成为解决桃叶杜鹃生长慢的关键技术措施之一。不同菌株接种促生效应的差异, 说明优良菌株的筛选很有必要, 从综合接种效应来看, TY18、TY29、TY35、TY02、TY12 和 TY07 等是培育桃叶杜鹃菌根苗优良备选菌株。

**致谢:** 感谢贵州大学林学院谢双喜教授及贵州山地农业病虫害重点实验室彭丽娟博士。

## 参考文献

- [1] 何跃军, 钟章成, 刘锦春, 等. 石灰岩土壤基质上构树幼苗接种丛枝菌根(AM)真菌的光合特征[J]. 植物研究, 2008, 28(4): 452-457.
- [2] 陈应龙, 弓明钦, 陈羽, 等. 外生菌根菌接种对红椎生长及光合作用的影响[J]. 林业科学研究, 2001, 14(5): 515-522.
- [3] 赵昕, 宋瑞清, 阎秀峰. 接种 AM 真菌对喜树幼苗生长及光合特征的影响[J]. 植物生态学报, 2009, 33(4): 783-790.
- [4] 张仁和, 郑友军, 马国胜, 等. 干旱胁迫对玉米苗期叶片光合作用和保护酶的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(5): 1303-1311.
- [5] 刘鹏, 康华靖, 张志详, 等. 香果树(*Emmenopterys henryi*)幼苗生长特性和叶绿素荧光对不同光强的响应[J]. 生态学报, 2008, 28(11): 5656-5664.
- [6] 史胜青, 袁玉欣, 杨敏生, 等. 水分胁迫对4种苗木叶绿素荧光的光化学淬灭和非光化学淬灭的影响[J]. 林业科学, 2004, 40(1): 168-172.
- [7] 冯玉龙, 曹坤芳, 冯志立, 等. 四种热带雨林树种幼苗比叶重, 光合特性和暗呼吸对生长光环境的适应[J]. 生态学报, 2002, 22(6): 901-910.
- [8] 高悦, 吴小芹. 6种外生菌根菌对3种松苗叶绿素含量及叶绿素荧光参数的影响[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2010, 34(6): 9-12.
- [9] Cairney JWG, Meharg AA. Ericoid mycorrhiza: a partnership that exploits harsh edaphic conditions[J]. European Journal of Soil Science, 2003, 54(4): 735-740.
- [10] Cairney JWG, Sawyer NA, Sharples JM, et al. Intraspecific variation in nitrogen source utilization by isolates of the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ericae* (Read) Korf and Kernan[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2000, 32(1): 1319-1322.
- [11] Sokolovski SG, Meharg YA, Maathuis FJM. Calluna

- vulgaris root cells show increased capacity for amino acid uptake when colonized with the mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ericae*[J]. *New Phytologist*, 2002, 155(3): 525–530.
- [12] Diaz A, Green I, Benvenuto M, et al. Are ericoid mycorrhizas a factor in the success of *Calluna vulgaris* heathland restoration?[J]. *Restoration Ecology*, 2006, 14(2): 187–195.
- [13] 张春英, 陈真, 于芳, 等. 云锦杜鹃 ERM 真菌接种效应研究及优良菌株筛选[J]. *上海农业学报*, 2010, 26(2): 38–41.
- [14] White TJ, Bruns T, Lee S, et al. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics, In PCR Protocols[M]. San Diego: Academic Press, 1990: 315–322.
- [15] <http://BLAST.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST.cgi>.
- [16] Komanik PP, Bryon WC, Schultz RC. Procedures and equipment for staining large numbers of plant root samples for endomycorrhizal assay[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 1980, 26(4): 536–538.
- [17] 弓明钦, 王凤珍, 陈羽, 等. 西南桦对菌根的依赖性及其接种效应研究[J]. *林业科学研究*, 2000, 13(1): 8–14.
- [18] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 1999: 134.
- [19] 陈丹明, 郭娜, 郭绍霞. 丛枝菌根真菌对牡丹生长及相关生理指标的影响[J]. *西北植物学报*, 2010(1): 131–135.
- [20] Maxwell K, Johnson GN. Chlorophyll II fluorescence: A practical guide[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2000, 51(3): 659–668.
- [21] 李冬林, 向其柏. 光照条件对浙江楠幼苗生长及光合特性的影响[J]. *南京林业大学学报: 自然科学版*, 2004, 28(5): 27–31.
- [22] 罗青红, 李志军, 伍维模, 等. 胡杨、灰叶胡杨光合及叶绿素荧光特性的比较研究[J]. *西北植物学报*, 2006, 26(5): 983–988.
- [23] 许大全. 光合作用效率[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002: 33.
- [24] 胡文海, 喻景权. 低温弱光对番茄叶片光合作用和叶绿素荧光参数的影响[J]. *园艺学报*, 2001, 28(1): 41–46.
- [25] 冯志立, 冯玉龙, 曹坤芳. 光强对砂仁叶片光合作用光抑制及热耗散的影响[J]. *植物生态学报*, 2002, 26(1): 77–82.
- [26] 赵丽英, 邓西平, 山仑. 渗透胁迫对小麦幼苗叶绿素荧光参数的影响[J]. *应用生态学报*, 2005, 16(7): 1261–1264.
- [27] Carrasco RM, Rodriguez JS, Perez P. Changes in chlorophyll II fluorescence during the course of photoperiod and in response to drought in *Casuarina equisetifolia* forst[J]. *Photosynthetica*, 2002, 40(3): 363–368.
- [28] Bader MR, Ruuska S, Nakano H. Electron flow to oxygen in higher plants and algae: rates and control of direct photoreduction (Mehler reaction) and rubisco oxygenase[J]. *Biological Sciences*, 2000, 1402: 1433–1445.
- [29] 郑淑霞, 上官周平. 8种阔叶树种叶片气体交换特征和叶绿素荧光特性比较[J]. *生态学报*, 2006, 26(4): 1080–1087.
- [30] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 第5版. 北京: 高等教育出版社, 2006: 63.
- [31] Druge U, Schonbeck F. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection on transpiration, photosynthesis and growth of flax (*Linum usitatissimum* L.) in relation to cytokinin levels[J]. *Journal of Plant Physiology*, 1992, 141(2): 40–48.
- [32] 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.
- [33] 周玉杰, 杨福孙, 宋希强, 等. 菌根真菌对华石斛幼苗生长及光合性能的影响[J]. *北方园艺*, 2009(12): 11–15.
- [34] 刘振华. 杜鹃花菌根真菌分离鉴定及多样性分析[D]. 北京: 中国林业科学研究院博士学位论文, 2010: 21–22.