

郑妍妍,徐玲洁,冯花蕾,等.模拟干旱胁迫对4种油松根系真菌生长及生理特性的影响[J].江苏农业科学,2024,52(14):236-243.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.14.033

模拟干旱胁迫对4种油松根系真菌生长及生理特性的影响

郑妍妍,徐玲洁,冯花蕾,付强,周勇

(河北农业大学,河北保定 071000)

摘要:采用 PEG-6000 模拟干旱胁迫,固体培养和液体培养的方法,研究 0、15%、25%、35% PEG-6000 对从油松根系分离出的 2 种外生菌根真菌[血红密孔菌(*Pycnoporus sanguineus*)、彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius*)]和 2 种深色有隔内生真菌[短梗蠕孢菌(*Pleotrichocladium opacum*)、须壳孢属(*Pyrenochaeta* sp.)]生长及生理特性的影响,以期探究油松根系真菌的抗旱机制,了解 4 种真菌对干旱胁迫的耐受性,为干旱地区挖掘具有应用价值的潜力菌株。结果表明,4 种真菌在 PEG 胁迫下均能够生长,与对照相比,*Ps* 生物量在 15%、25% PEG-6000 下显著提高,*Pt* 生物量仅在 35% PEG-6000 下显著提高,其余菌株的生物量在 PEG 胁迫下均显著提高,且 *Po*、*Pss* 生物量显著高于 *Ps*、*Pt*。在 PEG 胁迫下 4 种真菌均在一定程度上降低了培养液 pH 值,提高了抗氧化酶活性,多数能够提高脯氨酸和可溶性蛋白的含量来应对干旱胁迫环境。*Po*、*Pss* 的抗氧化酶活性在 35% PEG-6000 下仍显著高于对照,SOD 活性分别提高了 48.7%、82.0%,CAT 活性分别提高了 40.3%、122.4%。*Pss* 在 35% PEG-6000 下脯氨酸含量和可溶性蛋白含量相比对照仍显著提高,分别提高了 131.1%、267.6%。此外 4 种真菌在受到 PEG 胁迫时,体内 MDA 的积累有所差异。*Ps* 的 MDA 含量仅在 15% PEG-6000 下相比对照显著降低,降低了 38.8%。*Pt*、*Po* 的 MDA 含量在 PEG 胁迫下(除 15% PEG-6000)相比对照均显著增加,而 *Pss* 的 MDA 含量在 PEG 胁迫下均显著低于对照。综上,在 PEG 胁迫下,4 种真菌对干旱胁迫均具有一定的耐受性,均能够通过一定程度上降低培养液 pH 值,提高抗氧化酶活性,提高脯氨酸和可溶性蛋白的含量来适应干旱胁迫环境。4 种真菌对干旱胁迫的耐受能力大小为 $Pss > Po > Ps > Pt$ 。

关键词:PEG-6000;抗旱性;外生菌根真菌;深色有隔内生真菌;抗氧化酶活性;耐受性

中图分类号:S182 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)14-0236-08

干旱地区的水资源匮乏,植被覆盖率低,土体缺乏有效保护,土壤干燥松散、固持力差,水土流失严重^[1]。干旱胁迫对植物的生长发育也有一定的影响和危害,严重时甚至会导致植物死亡,因此干旱胁迫已经成为影响植物生长及生态环境效益的重要因素。菌根技术是应用于育苗造林、生态修复以及提高植物抗逆性的一项生物技术,优良菌剂的研发对于菌根技术的应用具有重要意义,因此挖掘具有抗旱潜力的真菌菌株,对干旱地区菌根菌剂的选择和在生态修复中的实际应用具有理论价值和指导意义。

共生真菌是能够与植物形成互惠共生关系的真菌,外生菌根真菌和深色有隔内生真菌是目前研究较为关注的 2 类真菌,外生菌根真菌是菌丝体能够侵染宿主植物营养根形成外生菌根的一类菌根真菌。外生菌根真菌资源丰富,全球约有 6 000 种外生菌根真菌,已有研究表明松科植物是最古老的外生菌根植物^[2]。深色有隔内生真菌是一类小型内生真菌,定殖于植物的根表皮细胞、根皮层、维管组织细胞内或植物根细胞间隙,具有明显带有横隔的深色的菌丝和微菌核结构^[3-4],分布广泛,在干旱、重金属污染、极地等极端环境中均有分布,近年受到了研究者的广泛关注^[5]。已有大量研究表明,接种外生菌根真菌或深色有隔内生真菌,能够促进植物的生长和抗逆性^[6-8],在生态环境修复方面也具有一定的应用价值^[9-11]。

目前关于外生菌根真菌和深色有隔内生真菌的研究主要集中于资源调查、分离鉴定以及对宿主植物影响的研究。有关真菌自身抗逆机制的相关

收稿日期:2023-09-02

基金项目:国家自然科学基金(编号:32001112);河北省自然科学基金(编号:C2023204238,C2020204169)。

作者简介:郑妍妍(1998—),女,河北元氏人,硕士,研究方向为园林植物资源评价与种质创新。E-mail:787472707@qq.com。

通信作者:周勇,博士,讲师,主要从事园林植物生理生态学研究。
E-mail:zhouyong275@sina.com。

研究相对较少,已有重金属胁迫、盐胁迫、低温胁迫以及干旱胁迫对真菌的影响研究^[12-17],但真菌自身的抗逆性机制仍尚不明确。并且具有耐旱性的真菌菌株报道较少,因此本试验利用 PEG-6000 模拟干旱胁迫,采用固体和液体 2 种方式进行真菌培养,测定 4 种真菌的菌落直径、生物量、抗氧化酶活性、渗透调节物质含量等指标,分析干旱胁迫对真菌生长及生理特性的影响,初步探究真菌抗旱的生理机制并挖掘具有抗旱能力的潜力菌株,以期研发可应用于干旱地区的优良菌剂提供参考依据。

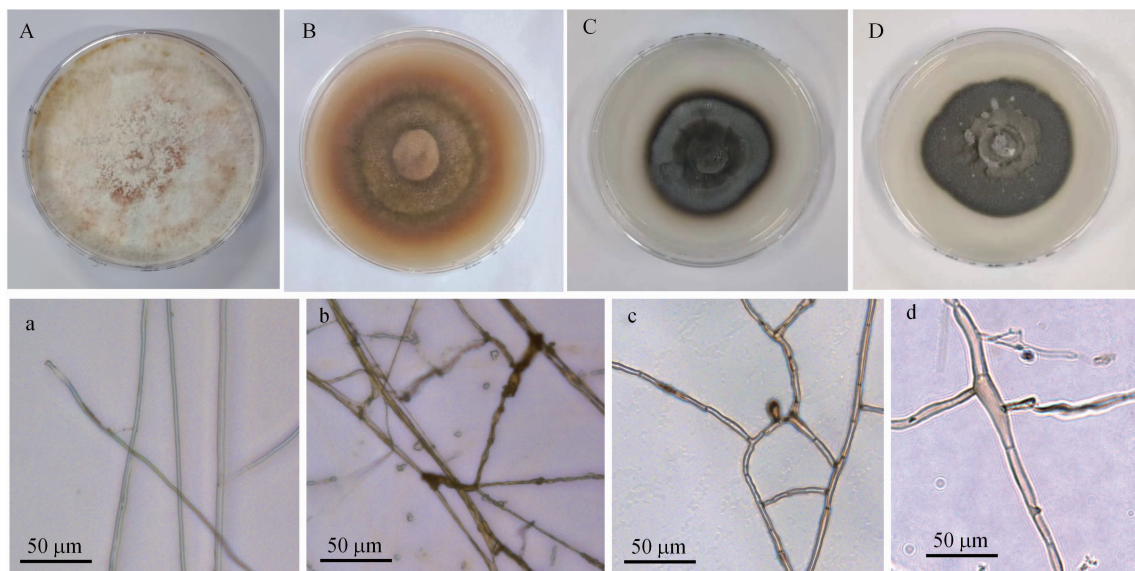
1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 试验于 2022 年 4—6 月于河北

农业大学园林与旅游学院实验室进行,供试菌株(图 1)为 2 种外生菌根真菌:血红密孔菌(*Pycnoporus sanguineus*, Ps)、彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius*, Pt); 2 种深色有隔内生真菌:短梗蠕孢菌(*Pleotrichocladium opacum*, Po)、须壳孢属(*Pyrenochaeta* sp., Pss),上述菌株均分离自油松根系,经纯化、鉴定后保存于河北农业大学园林与旅游学院实验室。菌株使用马铃薯葡萄糖琼脂培养基进行培养,储存于 27℃ 霉菌培养箱备用。

1.1.2 供试培养基 使用新鲜马铃薯、葡萄糖、植物凝胶、PEG-6000 制备试验所需的固体培养基和液体培养基,培养基含 PEG-6000 的浓度梯度为 0%、15%、25%、35%,共 16 个处理,每个处理 3 个重复。



A~D表示菌落形态: A 为血红密孔菌; B 为彩色豆马勃; C 为短梗蠕孢菌; D 为须壳孢属。a~d 表示对应的菌丝形态

图1 真菌菌落与菌丝形态

1.2 试验方法

1.2.1 含 PEG-6000 培养基的制备 将 200 g 削皮马铃薯切成小块,沸水煮沸 30 min 后用 4 层纱布过滤,向无残渣的滤液中加入 20 g 葡萄糖,充分搅拌溶解后定容至 1 L,自然 pH 值。配制试验所需的液体培养基时,在马铃薯提取液(葡萄糖 20 g/L)中分别加入 0、150、250、350 g/L 的 PEG-6000 固体,加热溶解完全后分别分装于 250 mL 锥形瓶中,每瓶 100 mL,用无菌膜封口,在 121℃ 下高压蒸汽灭菌 20 min 后备用,所得培养基即为分别含 0%、15%、25%、35% PEG-6000 的液体培养基。配制固体培养基时在液体培养基配制的基础上加入少量植物凝胶促凝,即可得到对应浓度的固体培养基。

1.2.2 真菌接种与培养 选取在马铃薯葡萄糖琼脂培养基上生长良好的真菌菌落,在超净工作台中沿菌落边缘切取直径 9 mm 的菌饼,分别接种到 20 mL 的固体培养基和 100 mL 的液体培养基中,固体培养于 27℃ 霉菌培养箱中进行,暗培养 14 d。液体培养于 27℃ 恒温摇床上进行,以 180 r/min 的速度振荡培养 14 d。

1.2.3 真菌菌落直径测定 采用十字交叉法测定菌落直径,每隔 1 d 测量 1 次,每个处理重复 3 次,连续观察 14 d,至培养结束时共测量 8 次。

1.2.4 真菌菌丝生物量测定 液体培养结束后过滤收集菌丝,一部分用于测定抗氧化酶活性及丙二醛、脯氨酸以及可溶性蛋白含量。另一部分菌丝体

称量鲜重后于 80 ℃ 烘干至恒重,以此确定菌丝体的含水量。2 个部分菌丝体的干重之和即为真菌的生物量^[18]。

1.2.5 真菌滤液 pH 值测定 液体培养结束后过滤收集真菌滤液,并使用 pH 计测定各处理滤液的 pH 值,每个处理重复 3 次。

1.2.6 真菌菌丝抗氧化酶活性测定 超氧化物歧化酶(SOD)活性采用氮蓝四唑光还原法测定,过氧化氢酶(CAT)活性采用高锰酸钾滴定法测定^[19]。

1.2.7 真菌菌丝丙二醛及渗透调节物质含量测定 丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定,脯氨酸含量采用茚三酮显色法测定,可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定^[20]。

1.3 数据分析

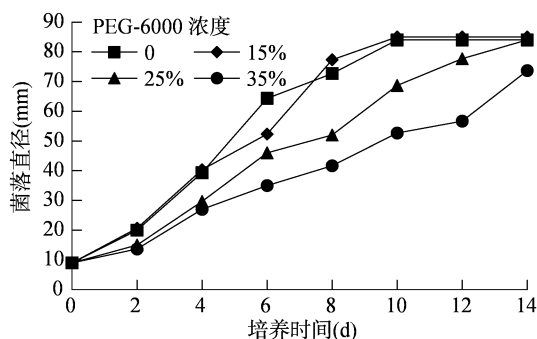
数据利用 SPSS 24.0 进行统计分析,用单因素

方差分析,邓肯氏新复极差法对试验数据进行显著性检验($\alpha=0.05$)。采用 Excel 2016 进行数据整理和图表制作。

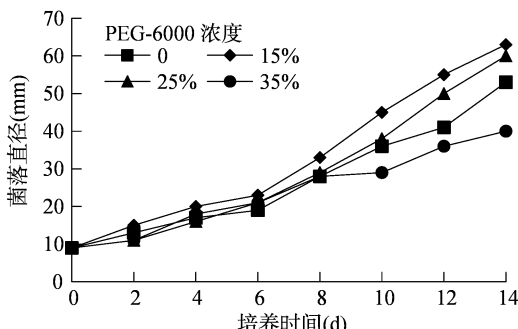
2 结果与分析

2.1 不同浓度 PEG-6000 对根系真菌生长的影响

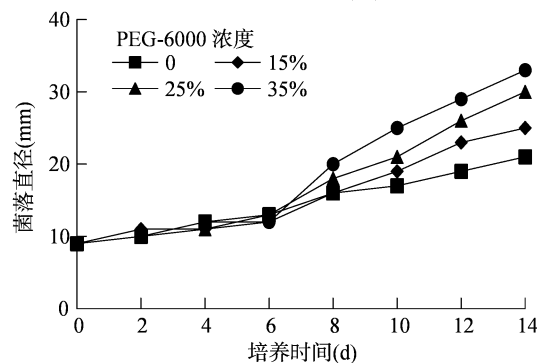
由图 2 可知,4 种真菌的生长趋势不同。*Ps* 在 0、15% PEG-6000 下菌落生长曲线呈幂函数趋势,随着 PEG 胁迫的增加,生长曲线变为线性趋势。*Pt* 在 0、15%、25% PEG-6000 下生长曲线呈指数型,而在 35% PEG-6000 下生长曲线呈线性趋势。*Po* 在 0 PEG-6000 下菌落直径呈线性趋势增长,在其余处理下生长曲线均为指数型,而 *Pss* 在所有处理下生长曲线均为指数型。



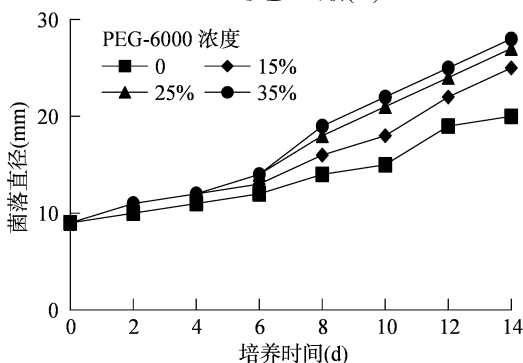
a. 血红密孔菌(*Ps*)



b. 彩色豆马勃(*Pt*)



c. 短梗蠕孢菌(*Po*)



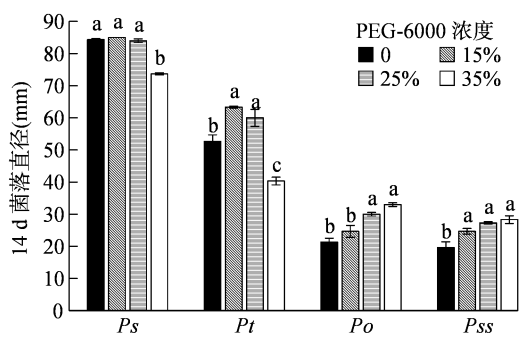
d. 须壳孢属(*Pss*)

图2 不同浓度 PEG-6000 胁迫下 4 种根系真菌的生长曲线

如图 3 所示,4 种真菌的 14 d 菌落直径随 PEG-6000 浓度的升高呈现不同的变化趋势。*Ps*、*Pt* 的菌落直径随 PEG-6000 浓度的升高呈先升高后降低的趋势,而 *Po*、*Pss* 的菌落直径呈逐渐升高的趋势。*Ps* 的菌落直径在 35% PEG-6000 下相比对照显著降低 12.6%。*Pt* 在 15%、25% PEG-6000 下菌落直径相比对照显著增加 20.3%、13.9%,在 35% PEG-6000 下菌落生长受到抑制,相比对照显

著降低 23.4%。*Po* 菌落直径在 25%、35% PEG-6000 下均显著高于对照,分别增加 40.6%、54.7%。*Pss* 菌落直径在各处理下相比对照分别显著提高 25.4%、39.0%、44.1% ($P<0.05$)。

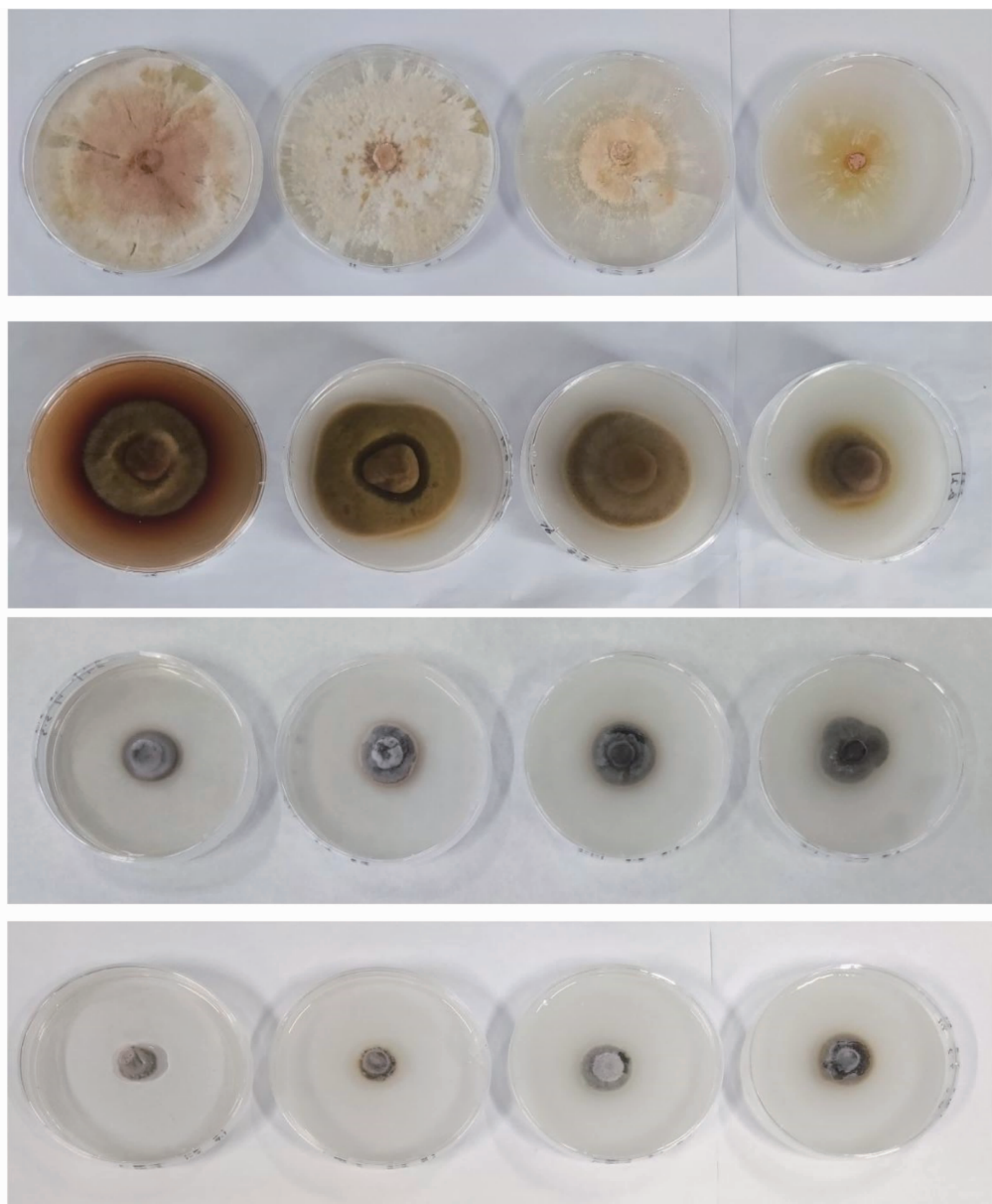
固体培养 14 d 后 4 种真菌在不同处理下的菌落形态如图 4 所示。*Ps* 在不加 PEG-6000 下菌落大而厚实,菌落全缘,颜色呈中间深红边缘浅红。随着 PEG-6000 浓度的升高,菌丝逐渐稀少,质地



真菌种类
误差线上不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。
图 5 至图 11 同

图3 不同浓度 PEG-6000 对 4 种根系真菌 14 d 菌落直径的影响

呈颗粒状。菌落颜色变浅且颜色不均匀,边缘逐渐呈放射状。*Pt* 在 0 浓度 PEG-6000 下菌丝细长,质地疏松,菌落颜色呈棕黄色。随着 PEG-6000 浓度的升高,菌落质地紧密呈绒毛状,菌落颜色逐渐变浅。*Po* 在 0 浓度 PEG-6000 下菌落疏松,菌落颜色呈浅灰色,边缘全缘。随着 PEG-6000 浓度升高菌落致密,菌落颜色逐渐加深。*Pss* 在 0 浓度 PEG-6000 下菌落质地致密,菌落颜色为浅灰色。随着 PEG-6000 浓度的升高,菌丝颜色逐渐变浅,菌落边缘逐渐呈波浪形锯齿状。



自左向右依次为 0、15%、25%、35% PEG-6000 下的真菌菌落形态;自上而下依次为血红密孔菌、彩色豆马勃、短梗蠕孢菌、须壳孢属菌株在不同浓度 PEG-6000 下的菌落形态

图4 不同浓度 PEG-6000 下 4 种根系真菌的菌落形态

2.2 不同浓度 PEG-6000 对根系真菌生物量的影响

由图 5 可知,在 PEG 胁迫下 4 种根系真菌均能够生长。随着胁迫浓度的增加,4 种真菌的生物量呈现出不同的变化趋势。其中 *Ps*、*Pss* 生物量随胁迫浓度增加呈先升高后降低的趋势,均在 15% PEG-6000 下达到最大值,相比对照分别显著提高 129.8%、211.0%,且 *Ps* 在 25% PEG-6000 下生物量提高 125.2%,*Pss* 在 25%、35% PEG-6000 下生物量分别提高 159.6%、137.8%。*Pt* 生物量随胁迫浓度的增加呈先降低后升高的趋势,在 35% PEG-6000 下相比对照仍显著提高 27.0%。*Po* 生物量随胁迫程度增加呈逐渐升高的趋势,相比对照分别显著提高 31.1%、81.0%、104.5% ($P < 0.05$)。整体上,相较对照 *Ps* 在 PEG 胁迫下对于生物量的提高优于 *Pt*; *Pss* 对于生物量的提高优于 *Po*。

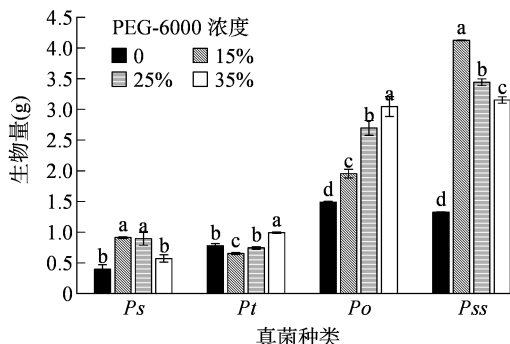


图5 不同浓度 PEG-6000 对 4 种根系真菌生物量的影响

2.3 不同浓度 PEG-6000 对根系真菌滤液 pH 值的影响

如图 6 所示,在 PEG 胁迫下真菌滤液的 pH 值均有所降低。*Ps*、*Pt* 滤液 pH 值呈先降低后升高的趋势,均在 25% PEG-6000 下达到最低,相比对照分别显著降低 1.92、1.44 个单位 ($P < 0.05$)。随着 PEG-6000 浓度的升高,*Po*、*Pss* 滤液 pH 值相比对照均显著降低,且在 35% PEG-6000 下达到最低,分别降低了 0.39、0.35 个单位。4 种真菌在受到 PEG 胁迫时滤液 pH 值均有所降低,说明真菌在受到 PEG 胁迫时能通过产生 H^+ 来维持其正常生长,最低 pH 值不同可能与其最适生长 pH 值有关。

2.4 不同浓度 PEG-6000 对根系真菌抗氧化酶活性的影响

由图 7、图 8 可知,随着 PEG 胁迫的增加,*Ps* 的 SOD 活性和 CAT 活性均有所提高,且在 15%、25% PEG-6000 下与对照存在显著差异 ($P < 0.05$),相比对照分别提高 37.1%、60.5% 和 43.4%、64.6%。

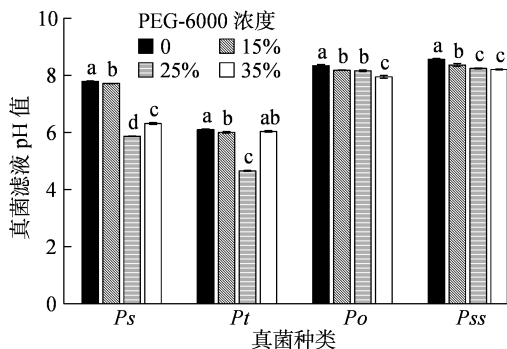


图6 不同浓度 PEG-6000 对 4 种根系真菌滤液 pH 值的影响

随着 PEG 胁迫的增加,*Pt* 的 SOD 活性均有所提高,在 15%、25% PEG-6000 下差异达到显著水平 ($P < 0.05$),相比对照分别提高 13.0%、48.9%,CAT 活性在 25%、35% PEG-6000 下相比对照分别显著提高 35.8%、56.8%。随着 PEG 胁迫的增加,*Po* 和 *Pss* 的 SOD 和 CAT 活性相比对照均显著提高 ($P < 0.05$),*Po* 的 SOD 活性分别提高 59.8%、77.6%、48.7%,CAT 活性分别提高 60.2%、83.7%、40.3%。*Pss* 的 SOD 活性分别提高 74.2%、80.2%、82.0%,CAT 活性分别提高 155.9%、125.2%、122.4%。

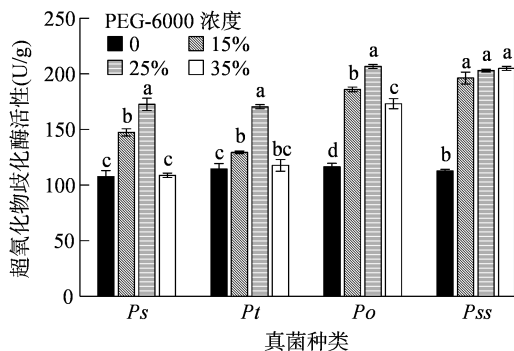


图7 不同浓度 PEG-6000 对 4 种根系真菌超氧化物歧化酶活性的影响

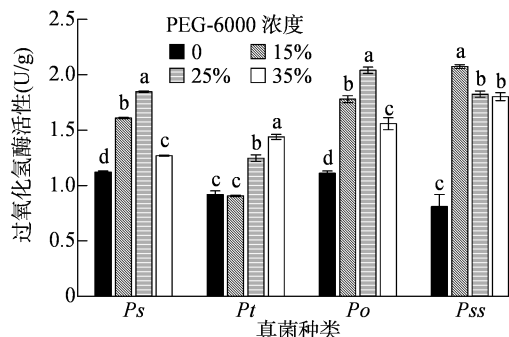


图8 不同浓度 PEG-6000 对 4 种根系真菌过氧化氢酶活性的影响

4 种根系真菌在低浓度 PEG 胁迫下能够促进其体内抗氧化酶活性的提高,而在最高浓度的

PEG-6000 处理下除 *Pss* 菌株的 SOD 活性和 *Pt* 的 CAT 活性仍有所提高外,其他菌株体内抗氧化酶活性的提高程度有所降低,但在较高浓度 PEG-6000 下 *Po* 和 *Pss* 菌株抗氧化酶活性仍显著高于对照,总的来说,在 PEG 胁迫下真菌提高抗氧化酶活性的效果为 *Po*、*Pss* 优于 *Ps*、*Pt*, *Pss* 优于 *Po*, *Ps* 优于 *Pt*。

2.5 不同浓度 PEG-6000 对根系真菌丙二醛含量的影响

如图 9 所示,随着 PEG-6000 浓度的升高,真菌 MDA 含量呈不同的变化趋势。*Ps*、*Pss* 在受到 PEG 胁迫时 MDA 含量呈现先降低后升高的趋势, *Pt*、*Po* 的 MDA 含量随胁迫程度的增加呈逐渐上升的趋势。*Ps* 在 15% PEG-6000 下 MDA 含量与对照存在显著差异,相比对照显著降低了 38.8%。*Pt* 在 25%、35% PEG-6000 下 MDA 含量与对照存在显著差异,相比对照分别增加了 144.9%、174.2%。*Po* 在 PEG-6000 处理下 MDA 含量均显著高于对照,分别增加了 26.9%、90.3%、146.6%。*Pss* 在 PEG-6000 处理下 MDA 含量均显著低于对照,分别降低 95.7%、75.7%、23.9% ($P < 0.05$)。 *Ps*、*Pss* 在受到 PEG 胁迫时 MDA 含量存在显著降低,说明其通过一定的体内调节减少了体内 MDA 含量的积累。而 *Pt*、*Po* 体内 MDA 含量积累较多说明其体内调节能力相比其他 2 种菌株较弱。

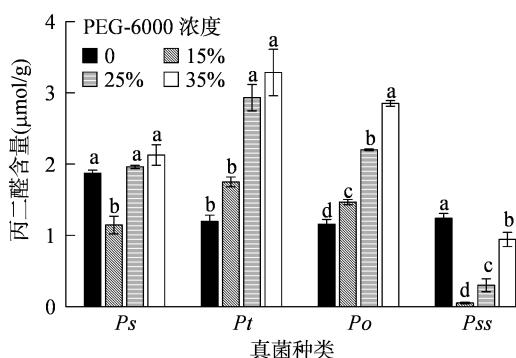


图9 不同浓度 PEG-6000 对 4 种根系真菌丙二醛含量的影响

2.6 不同浓度 PEG-6000 对根系真菌渗透调节物质的影响

由图 10 可知,随着 PEG-6000 浓度的升高, *Ps*、*Pt*、*Po* 的脯氨酸含量均呈先升高后降低的趋势,且在 15% PEG-6000 下脯氨酸含量达到最大值。*Pss* 的脯氨酸含量随 PEG-6000 浓度的升高逐渐升高,且在 35% PEG-6000 下达到最大值。*Ps* 的脯氨酸含量仅在 15% PEG-6000 下相比对照显著增加,增加了 46.1%, *Pt* 在 PEG-6000 处理下的脯氨

酸含量与对照相比均存在显著差异,相比对照分别增加 121.9%、45.6%、19.7%。*Po* 在 15% PEG-6000 下脯氨酸含量相比对照显著增加,增加了 24.8%。*Pss* 在 PEG-6000 处理下的脯氨酸含量均显著高于对照,相比对照分别增加 31.8%、41.6%、131.1% ($P < 0.05$)。

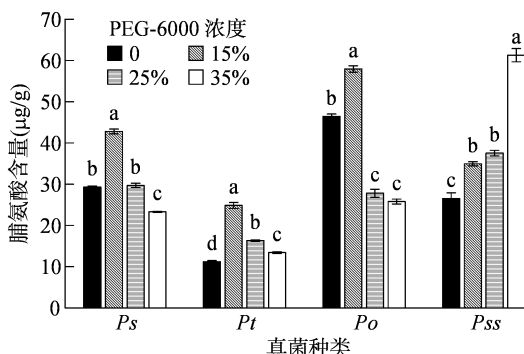


图10 不同浓度 PEG-6000 对 4 种根系真菌脯氨酸含量的影响

如图 11 所示, *Ps* 的可溶性蛋白含量随 PEG 浓度的升高呈先上升后下降的趋势,且在 PEG-6000 处理下可溶性蛋白含量均显著高于对照,相比对照分别提高 99.9%、47.4%、32.8% ($P < 0.05$)。 *Pt* 的可溶性蛋白含量随 PEG-6000 浓度增加呈逐渐下降的趋势,且在 35% PEG-6000 下可溶性蛋白含量最低,相比对照显著降低 52.1%。*Po*、*Pss* 菌株的可溶性蛋白含量随 PEG-6000 浓度的增加呈逐渐上升的趋势,在 35% PEG-6000 下达到最大值。*Po* 的可溶性蛋白含量在 PEG-6000 处理下均显著高于对照组,相比对照分别增加 54.6%、75.4%、170.8%。*Pss* 的可溶性蛋白含量在 PEG-6000 处理下均显著高于对照,相比对照分别显著增加 163.0%、259.9%、267.6% ($P < 0.05$)。

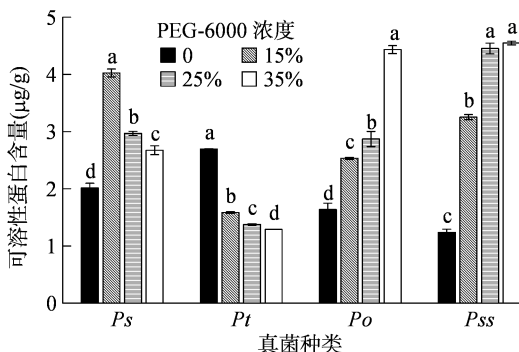


图11 不同浓度 PEG-6000 对 4 种根系真菌可溶性蛋白含量的影响

在受到 PEG 胁迫时,4 种真菌中多数能够通过提高自身脯氨酸和可溶性蛋白的产生来应对胁迫,

表现为低浓度胁迫下促进产生,高浓度胁迫下产生含量有所降低,可能与胁迫程度过高有关。相较对照而言,在 PEG 胁迫下 P_{ss} 对于脯氨酸和可溶性蛋白含量的提高优于 P_o ,其在高浓度下仍能产生较多的脯氨酸和可溶性蛋白。相较对照, P_s 对于可溶性蛋白含量的提高要优于 P_t 。2 种深色有隔内生真菌 (P_o 、 P_{ss}) 对于可溶性蛋白含量的提高优于 2 种外生菌根真菌 (P_s 、 P_t)。

3 讨论

干旱胁迫是影响生物生存的一种重要的非生物胁迫,干旱胁迫使生物可利用水分缺乏,从而导致其生长受到抑制。目前实验室条件下,PEG-6000 是被广泛应用于模拟干旱胁迫的化合物^[21-23]。本试验利用 PEG-6000 模拟干旱胁迫,试验表明在胁迫处理下 4 种真菌的生长情况存在差异。已有研究表明较低浓度的 PEG 胁迫能够促进菌丝生长,而 PEG 浓度较高时,菌丝的生长会受到抑制^[24]。在本试验中 P_s 的生长曲线在 15% PEG-6000 下呈幂函数趋势,而在高浓度 PEG-6000 下生长曲线呈线性趋势,且菌落直径在高浓度下有所降低, P_t 的生长曲线在 35% PEG-6000 下为线性,菌落直径显著降低,而其余处理下生长曲线均为指数型,菌落直径显著增加。这说明 P_s 、 P_t 在低浓度的 PEG 胁迫下菌丝生长受到了促进,而高浓度 PEG 处理下生长受到抑制,这与前人的研究结果^[24]一致。而 P_o 、 P_{ss} 在 PEG-6000 处理下生长曲线均为指数型,且菌落直径呈上升趋势,这说明 P_o 、 P_{ss} 在 PEG 胁迫处理下的生长均受到促进作用,这可能与真菌的种类不同有关。

在胁迫环境下,真菌的生长情况及生物量是反映其抗性的重要指标^[25]。4 种真菌在 PEG 胁迫下均能够正常生长,说明其对 PEG 胁迫具有一定的耐受性。除 P_t 外 P_s 、 P_o 、 P_{ss} 菌株在 PEG 胁迫下的生物量均高于对照组,且 4 种真菌的滤液 pH 值在 PEG 胁迫下相比对照均有所降低。这说明真菌在受到胁迫时能够分泌酸性物质来调节其生长环境的酸碱度,从而促进其生长。多数情况下 ECMF 喜酸性环境,最适 pH 值在 4.0 ~ 6.0^[26],但不同菌种对 pH 值的偏好也存在较大差异^[27],也存在真菌偏好微碱性生长环境的情况^[28]。在本试验中 P_s 、 P_t 滤液的 pH 值大部分呈酸性而 P_o 、 P_{ss} 在各个 PEG-6000 浓度下滤液的 pH 值呈弱碱性,这可能与真菌

的最适 pH 值有关。

在正常的环境条件下,细胞内活性氧 (ROS) 的产生和保护酶发挥作用进行活性氧的清除处于平衡状态,然而当生物体受到环境胁迫时,细胞内的 ROS 产生增多^[29],由于产生过量的 ROS 抗氧化系统并不能及时将其清除,进而导致 ROS 在生物体内发生大量积累,最终导致细胞受到氧化损伤。SOD、CAT 是抗氧化系统中用于清除 ROS 和 H_2O_2 的重要保护酶,在细胞内相互协作发挥维持 ROS 产生与清除平衡状态的作用,从而对生物体抗逆性的提高发挥一定作用^[30]。在本试验中,4 种真菌在受到 PEG 胁迫时其抗氧化酶活性存在一定程度的升高,这与刘燕霞的研究结果具有相似性,其研究中所用真菌的 SOD 活性在干旱胁迫下均高于对照^[31]。这说明真菌细胞可能通过合成抗氧化酶来清除干旱环境下积累的 ROS,以此来缓解自身受到的氧化伤害。试验中 P_o 、 P_{ss} 对抗氧化酶活性的提高程度要高于 P_s 、 P_t ,说明 P_o 、 P_{ss} 应对 PEG 胁迫的能力要强于 P_s 、 P_t 。

渗透调节是生物抵御胁迫环境的一种重要的生理调节,通过渗透调节可以提高其在胁迫环境下的适应性^[32]。脯氨酸是生物体内重要的渗透保护物质,在胁迫环境中可以大量积累从而有效地调节生物的代谢,降低胁迫环境对其造成的伤害。其含量可以反映逆境对生物的危害程度和生物对胁迫的抵抗力^[33]。可溶性蛋白是渗透调节中一种重要的渗透调节物质,它能够促进菌丝细胞的渗透调节从而提高菌丝细胞对胁迫的耐受性。在本试验中, P_s 、 P_t 、 P_o 的脯氨酸含量均呈先上升后下降的趋势,且在 15% PEG-6000 下达到最大,而 P_{ss} 的脯氨酸含量呈显著上升趋势。除 P_t 外真菌的可溶性蛋白含量在 PEG 胁迫处理下均大于对照,这说明菌株在受到 PEG 胁迫时,脯氨酸和可溶性蛋白可能参与渗透调节来提高菌丝对 PEG 的耐受性^[34]。MDA 是细胞在胁迫环境下膜脂氧化的主要产物,其含量可以反映细胞所受胁迫的程度^[35-36]。随 PEG 浓度的增加, P_t 、 P_o 的 MDA 含量呈显著上升趋势,而 P_s 、 P_{ss} 的 MDA 含量随浓度的变化呈先降低后升高的趋势,且在 15% PEG-6000 下相比对照显著降低,这可能与参与渗透调节物质含量的增加以及抗氧化酶活性的提高有关。

4 结论

研究表明,在 PEG 胁迫下 4 种真菌均能够正

常生长,能通过降低培养液 pH 值,提高 SOD 活性、CAT 活性以及提高脯氨酸含量和可溶性蛋白含量来应对胁迫环境。在 PEG 胁迫下 P_o 、 P_{ss} 生物量的积累优于 P_s 、 P_t 。 P_o 、 P_{ss} 相比 P_s 、 P_t 对抗氧化酶活性的提高和提高渗透调节物质的含量更多,综合分析试验结果可知,2 种深色有隔内生真菌 P_o 和 P_{ss} 在 PEG 胁迫下生长状况优于 2 种外生菌根真菌 P_s 和 P_t ,4 种真菌的耐旱能力大小为: $P_{ss} > P_o > P_s > P_t$ 。4 种真菌具有作为耐旱菌剂的潜力以应用于干旱地区促进植物生长及增强植物抗旱性,对干旱地区的育苗造林和生态修复具有重大意义。

参考文献:

- [1] 王九龄. 西部干旱半干旱地区生态建设中的造林问题[J]. 世界林业研究,2000,13(4):7-10.
- [2] Tedersoo L, Bahram M, Toots M, et al. Towards global patterns in the diversity and community structure of ectomycorrhizal fungi [J]. Molecular Ecology, 2012, 21(17):4160-4170.
- [3] Addy H D, Piercey M M, Currah R S. Microfungal endophytes in roots[J]. Canadian Journal of Botany, 2005, 83(1):1-13.
- [4] Mandyam K, Loughin T, Jumpponen A. Isolation and morphological and metabolic characterization of common endophytes in annually burned tallgrass prairie[J]. Mycologia, 2010, 102(4):813-821.
- [5] 代梦雪, 张光群, 范旭杪, 等. 胁迫生境深色有隔内生真菌生态分布与功能研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(3):722-729.
- [6] 杨智, 王华伟, 沙涛. 外生菌根真菌的研究进展[J]. 中国食用菌, 2016, 35(1):1-7.
- [7] 邓勋, 宋小双, 尹大川, 等. 深色有隔内生真菌提高宿主植物抗逆性的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(31):10-11, 17.
- [8] 王艺, 杨凯来. 菌根化马尾松苗生长形态对干旱及复水响应[J]. 西南农业学报, 2022, 35(8):1794-1801.
- [9] 温祝桂, 王杰, 汤阳泽, 等. 外生菌根真菌彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius*)辅助植物修复重金属 Cu 污染土壤的应用潜力[J]. 生物技术通报, 2017, 33(4):149-156.
- [10] 毕银丽, 解琳琳. 丛枝菌根真菌与深色有隔内生真菌生态修复功能与作用[J]. 微生物学报, 2021, 61(1):58-67.
- [11] 毕银丽, 彭苏萍, 王淑惠. 西部煤矿区深色有隔内生真菌修复机理与生态应用模式[J]. 煤炭学报, 2022, 47(1):460-469.
- [12] 刘梦娇, 张英伟, 柴立伟, 等. 铜胁迫下 4 种外生菌根真菌的耐受性比较[J]. 菌物研究, 2017, 15(1):39-45.
- [13] 冯欢, 豆青, 王海华, 等. 2 种外生菌根真菌的铅耐受性及相关机制[J]. 西北林学院学报, 2017, 32(2):188-196.
- [14] 杨志慧, 朱一丹, 杨宝山, 等. 两种外生菌根真菌对镉胁迫的生理生态响应[J]. 生态学杂志, 2023, 42(1):29-38.
- [15] 宋小双, 邓勋, 遇文婧, 等. 盐胁迫对深色有隔内生真菌 D575 和 D377 生长及营养代谢的影响[J]. 中国农学通报, 2015, 31(13):36-42.
- [16] Lehto T, Brosinsky A, Heinonen - Tanski H, et al. Freezing

- tolerance of ectomycorrhizal fungi in pure culture[J]. Mycorrhiza, 2008, 18(8):385-392.
- [17] 卢中科, 李敏, 丁贵杰. PEG-6000 胁迫下 3 种外生菌根真菌的生长特性[J]. 西北林学院学报, 2020, 35(5):151-158.
 - [18] 侯力峰. 三种荒漠植物深色有隔内生真菌物种多样性和耐盐性研究[D]. 保定:河北大学, 2020:53.
 - [19] 乔富廉. 植物生理学实验分析测定技术[M]. 北京:中国农业科技出版社, 2002:151-152.
 - [20] 蔡庆生. 植物生理学实验[M]. 北京:中国农业大学出版社, 2013:39-178.
 - [21] Christmann A, Hoffmann T, Teplova I, et al. Generation of active pools of abscisic acid revealed by *in vivo* imaging of water-stressed *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2005, 137(1):209-219.
 - [22] Verslues P E, Bray E A. LWR1 and LWR2 are required for osmoregulation and osmotic adjustment in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiology, 2004, 136(1):2831-2842.
 - [23] Verslues P E, Bray E A. Role of abscisic acid (ABA) and *Arabidopsis thaliana* ABA-insensitive loci in low water potential-induced ABA and proline accumulation [J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 57(1):201-212.
 - [24] 杨艳. 外生菌根真菌提高油松抗旱性的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2010:24-48.
 - [25] 简灵静, 张瑶锐, 林晗, 等. 铝胁迫下 5 种内生真菌的生长与吸收动力学特征[J]. 森林与环境学报, 2024, 44(2):157-163.
 - [26] 弓明钦, 陈应龙, 仲崇禄, 等. 菌根研究及应用[M]. 北京:中国林业出版社, 1997:37-46.
 - [27] 李翠, 杨艳, 张茹琴, 等. 4 种外生菌根真菌培养条件的研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2009, 37(2):155-159.
 - [28] 周慧杰. 培养液 pH 对外生菌根真菌生长影响分析[J]. 中国食用菌, 2019, 38(8):42-44.
 - [29] 孙一荣, 朱教君. 水分处理对沙地樟子松幼苗膜脂过氧化作用及保护酶活性影响[J]. 生态学杂志, 2008, 27(5):729-734.
 - [30] 赵晶晶, 詹万龙, 周浓. 非生物胁迫下植物体内活性氧和丙酮醛代谢的研究进展[J]. 南方农业学报, 2022, 53(8):2099-2113.
 - [31] 刘燕霞, 龙俊萌, 王静茹, 等. 五种漠境深色有隔内生真菌对小麦促生抗旱效应研究[J]. 中国科学(生命科学), 2021, 51(9):1339-1349.
 - [32] 王骞春, 陆爱君, 冯健, 等. 干旱胁迫对日本落叶松生理指标的影响[J]. 东北林业大学学报, 2016, 44(8):13-17, 40.
 - [33] 曹清河, 李雪华, 戴习彬, 等. PEG-6000 模拟干旱胁迫对甘薯近缘野生种 *Ipomoea trifida* (Kunth) G. Don 幼苗生理生化指标的影响[J]. 西南农业学报, 2016, 29(11):2536-2541.
 - [34] 胡倩楠. 荒漠植物深色有隔内生真菌物种多样性及耐旱性研究[D]. 保定:河北大学, 2022:13-40.
 - [35] Khan A L, Hamayun M, Khan S A, et al. Pure culture of *Metarhizium anisopliae* LHL07 reprograms soybean to higher growth and mitigates salt stress [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2012, 28(4):1483-1494.
 - [36] 周翠, 张雯, 王婷, 等. 秋华柳抗氧化酶系统对镉胁迫的响应[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2017, 39(10):27-34.