

肖晓梅,丁玲. 菌根真菌对干旱胁迫下建兰生理生化、根系脂肪酸组成及水分利用的影响[J]. 江苏农业科学,2023,51(2):160-168.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.02.024

菌根真菌对干旱胁迫下建兰生理生化、根系脂肪酸组成及水分利用的影响

肖晓梅,丁玲

(福建农业职业技术学院园艺园林学院,福建福州 350000)

摘要:菌根真菌具有增加宿主植物耐旱性的能力,但关于菌根真菌对宿主脂肪酸(FAs)组成的潜在调控机制仍知之甚少。采用盆栽试验,设置充足水分(WW)和干旱处理(DS),研究接种角担菌(CE)、胶膜菌(TU)和蜡壳菌(SE)对干旱胁迫下建兰(*Cymbidium ensifolium*)抗氧化系统、水分利用及脂肪酸组成的影响;探讨菌根真菌缓解兰花干旱胁迫的生理机制,为兰花栽培提供理论依据。结果表明,3株菌根真菌均能与建兰构建共生关系,但在干旱胁迫下菌根真菌存活率均显著降低。在WW和DS条件下,接种菌根真菌均显著提高了根系不饱和脂肪酸(C14:1、C17:1、C18:2、C20:3n3、C20:4n6、C22:2)含量,显著降低了饱和脂肪酸(C18:0、C20:0、C24:0)含量,使得FAs不饱和比例增加。DS条件下,菌根真菌提高了抗氧化酶(SOD、CAT、POD)活性、 H_2O_2 含量及水分利用参数(WUE、RWC),降低了丙二醛(MDA)及超氧阴离子自由基($O_2^- \cdot$)含量,并上调了相关FAs去饱和酶基因(*CyFAD2*、*CyFAD6*、*CyFAC9*、*CyFAZ15*)的表达。综上,干旱胁迫下,菌根真菌通过调节FAs去饱和酶基因的表达从而影响相应脂肪酸含量,导致根系脂肪酸的不饱和指数增加,并调节丙二醛和超氧阴离子自由基含量,最终降低氧化损伤;整体来看,干旱胁迫下以接种胶膜菌(*Tulasnella* sp.)效果最佳。

关键词:菌根真菌;建兰;干旱胁迫;脂肪酸;基因表达水平

中图分类号:S682.310.1;S182 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)02-0160-08

水资源短缺导致的干旱胁迫已成为全球性的严重问题,大量研究表明,干旱胁迫可影响植物的养分吸收、光合作用和细胞代谢等生理生化过程,严重制约着植物的生长发育和生产力^[1]。干旱胁迫会诱导产生活性氧(ROS)物质过量累积,最终引起膜脂过氧化,使得超氧阴离子自由基($O_2^- \cdot$)、羟基自由基($\cdot OH$)、过氧化氢(H_2O_2)等过氧化产物累积,从而破坏多种生物分子,包括蛋白质、脂质及核糖核酸等^[2]。植物可分泌各种非酶促和酶促物质,通过不同生化策略减轻甚至消除过量ROS累积对细胞带来的消极影响^[3-4]。超氧化物歧化酶(SOD)是消除 $O_2^- \cdot$ 的第一限制酶,可催化 $O_2^- \cdot$ 歧化为 H_2O_2 ,随后 H_2O_2 被过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)转化为 H_2O 和 O_2 ,从而应对环境胁迫^[5]。因此,干旱胁迫下植物中抗氧化酶特征可以

反映植物耐受土壤水分亏缺的能力。

细胞膜是参与细胞呼吸、光合作用和信号转导等生理过程的半透性膜^[6],细胞膜的完整性和功能受脂质组成和脂肪酸(FAs)饱和度的影响。在生物体中膜脂中的FAs主要分为饱和脂肪酸(SFA)和不饱和脂肪酸(UFA)。目前的研究表明,FAs饱和度的特征、组成及变化与植物应对胁迫的策略密切相关^[7]。先前的研究表明,干旱胁迫下不同狗牙根草(*Cynodon dactylon* L.)的FAs特征变化不同,在耐旱品种中UFA含量波动较小,在敏感品种中UFA总量降低^[8];进一步研究发现敏感型狗牙根草中主要表现为亚油酸(C18:2)和亚麻酸(C18:3)减少,棕榈酸(C16:0)和硬脂酸(C18:0)增加^[9]。与此相反,在干旱环境中葡萄(*Vitis vinifera*)苗中以亚油酸(C18:2)为主的UFA含量增加,而以山萘酸(C22:0)为主的SFA整体降低^[10]。以上研究表明,干旱胁迫下植物可通过调节FAs的组成特征以维持生物膜的完整性。

建兰(*Cymbidium ensifolium*)为兰科(Orchidaceae)兰属(*Cymbidium*)多年生观赏性草本植物,建兰以

收稿日期:2022-07-29

基金项目:福建省教育厅中青年课题项目(编号:JZ180532)。

作者简介:肖晓梅(1976—),女,福建大田人,硕士,副教授,主要从事园林植物研究。E-mail:18960857650@qq.com。

其花姿优美、叶艺俱佳、兰香馥郁等特点深受人们喜爱^[11]。然而在室内栽培或野外自然生长过程中易受到干旱和地表高温等影响,且建兰对于干旱环境极为敏感,当水分长期供应不足时植株色泽暗淡甚至焦枯。兰科菌根(ORM)是兰科原球茎或成年植株根部与特定菌根真菌形成的一种共生结构^[12],绝大部分兰科植物必须通过 ORM 获取养分资源才能正常生长;目前,发掘菌根真菌应用于兰花栽培已成为最具应用前景的技术策略之一。本研究基于前期从建兰根系分离得到的 3 种不同属兰科菌根真菌,且研究表明该 3 株菌株对建兰(*C. ensifolium*)、硬叶兰(*C. mannii*)和铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)生长具有良好的促进作用,但对于胁迫条件下兰科的促生效果尚不清楚^[11];基于此,探索了菌根真菌对于干旱胁迫下建兰生理生化及脂肪酸组成的影响。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

试验于 2021 年 6—10 月在福建农业职业技术学院园艺实验室中进行。供试建兰(*Cymbidium ensifolium*)品种为小桃红,为标准的 5 cm 组培苗,来自福建农林大学兰科植物保护与利用重点实验室。3 株兰科菌根真菌分别为胶膜菌(*Tulasnella* sp.)、角担菌(*Ceratobasidium* sp.)和蜡壳菌(*Sebacina* sp.),均分离自建兰根系,3 株菌根真菌具体信息见文献^[11],皆来自中国林业科学研究院林业研究所。

1.2 试验设计

试验设置培养水分含量为主处理,接种兰科菌根真菌与否为次处理。次处理为:CK,不接种兰科菌根真菌;CE,接种角担菌;TU,接种胶膜菌株;SE,接种蜡壳菌;以上处理皆基于 2 个水分主处理:85% 正常土壤含水率(WW)、土壤 50% 含水率的干旱处理(DS),共 8 个处理组合。各处理重复 5 次。

试验盆栽装置为黑色圆锥形塑料桶,上口口径 18 cm、下口径 15 cm、盆高 22 cm。每盆装花卉培养基质 2.5 kg。菌株处理采用均匀灌根方式施入,CK 处理则加入无菌培养液。按照上述处理设置土壤含水量,将 1 年生的建兰植株转移至相应处理土壤基质中。同时采用配备园艺型 ML3 探头的 HH-2 WET/WET-2-K1 Delta-T WET 便携式土壤水分仪(上海禾工科学仪器有限公司)监测培养基质含

水率,采用自动滴灌方式补充水分。

1.3 样品采集及测定分析

1.3.1 菌株重分离、抗氧化酶活性、应激产物含量及水分利用参数测定 培养结束后,取建兰接种菌株的植株和不接种处理各 3 株,挑选幼嫩根系采用 0.1% 的氯化汞(HgCl_2)溶液进行表面消毒 2 min,接着无菌水清洗 3~5 次;之后采用组织块分离法进行菌根真菌的重分离,具体操作参照陈宝玲等的方法^[13]。

测定第 3~4 张完全展开叶的水分利用指标,植株水分利用效率(WUE) = DW/用水量,植株相对含水量(RWC)采用烘干称质量法测定, $\text{RWC} = (\text{FW} - \text{DW}) / (\text{TW} - \text{DW}) \times 100\%$ 。式中:FW、DW、TW 分别为鲜质量、干质量、膨压质量^[14]。建兰叶片丙二醛(MDA)含量、过氧化氢(H_2O_2)含量、超氧阴离子自由基($\text{O}_2^- \cdot$)含量、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性及过氧化物酶(POD)活性皆采用相应试剂盒(南京建成生物工程研究所)进行测定,试剂盒型号分别为 A003-1-2、A064-1-1、A052-1-1、A001-4-1、A007-1-1 及 A084-3-1。

1.3.2 根系脂肪酸成分及含量测定 脂肪酸(FAs)的测定参考 GB 5009.168—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定》,采用气相色谱-质谱法测定。称取 -20 °C 保存的建兰根系样品 50 mg、1% H_2SO_4 和 2 mL 色谱级甲醇溶液加入到 10 mL 的 PE 试管中,在 80 °C 下进行甲酯化反应,后续加入 1.0 mL 正己烷和 0.5 mL 乙醚,用涡旋混匀器溶解混匀进行初步萃取;再加 1.0 mL 甲醇、1.0 mL 氢氧化钾-甲醇溶液(1 mol/L)。采用涡旋混匀器溶解混匀 30 s,静置 10 min;采用去离子水进行洗涤,再转移到 2 mL 自动进样器中。将 500 μL 水杨酸甲酯(50 mg/L)作为内标加入 1 mL 正己烷萃取液,随后通过 30 m \times 0.25 mm 的 Agilent DB-WAX 毛细管柱(Agilent Scientific, Santa Clara, USA)并使用 Agilent 7890A/5975C 气相色谱-质谱(GC-MS)系统(Agilent Technologies, Santa Clara, USA)测定 FA 含量。

仪器分析条件:分流比 10:1,进样口温度 280 °C,传输线温度 250 °C,进样体积为 1 μL ;以高纯氮气为载气,氮气流速 1.0 mL/min,恒流模式,压力 190 kPa。升温程序:在 50 °C 下保持 3 min,以 10 °C/min 的速率升温至 220 °C,保持 15 min,再以

5 °C/min 的速率升温至 240 °C,保持 20 min。质谱采用全扫描法测定,范围为 35 ~ 780 m/z 。将 34 种脂肪酸标准品和甲酯化后的样品进行仪器分析,以脂肪酸甲酯标准溶液中各脂肪酸甲酯混合液(1 000 $\mu\text{g/mL}$)进行归一化法定量^[15]。

1.3.3 脂肪酸去饱和酶相关基因表达水平测定
称取建兰根系样品 50 mg 采用冷冻研钵和研杵进行快速研磨,采用 EASY spin Plus Plant RNA Kit 试剂盒(RN38 Aidlab,北京)提取研磨样的总 RNA,采用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性,并采用 H6132 型分光光度计(H6132, Eppendorf, Hamburg, Germany)对 RNA 进行纯度测定。采用 TRUEscript 1st Strand cDNA Synthesis Kit With gDNA Eraser

(PC5402, Aidlab)将 RNA 逆转录为第 1 链 cDNA。根据目前 GenBank 序列数据库的兰花(*Cymbidium*) FA 基因(*CyFAD2*、*CyFAD6*、*CyFAC9*、*CyFAZ15*),采用 Primer Express 5.0 软件设计扩增引物(表 1),内参基因(*TUB*)参考曹映辉等的研究^[16]。

定量实时聚合酶链反应(qRT-PCR)包含 2 × 10 μL AceQ qPCR SYBR Green Master Mix、0.4 μL 正反向引物、2 μL cDNA 模板和 7.2 μL ddH₂O。使用 CFX97 实时 PCR 检测系统(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)进行 qRT-PCR 扩增,程序如下:95 °C 预变性 5 min;95 °C 融化变性 10 s,60 °C 退火 30 s,循环 35 次;72 °C 延伸 15 s。实时定量结果采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 算法进行相对表达量分析。

表 1 脂肪酸去饱和酶相关基因的 qRT-PCR 引物序列信息

基因	正向引物序列(5'→3')	反向引物序列(5'→3')	产物长度 (bp)
<i>TUB(Actin)</i>	GCAGTTTACGGCGATGTTCA	ACTCTTCCTCGTCAGCTGTG	149.8
<i>CyFAD2</i>	AGGAGGCAAGACTGGAGATAAGG	GGTGCAGGTGGACGAATGTCTG	166.3
<i>CyFAD6</i>	CTGCACGGAGATACAGCTTGGC	GGAATGTGAGGAGCCCTATGATGC	161.7
<i>CyFAC9</i>	TGCTCTCCTACTGTGATGTACGATG	CTCTCCAGCCTTCTGATCTCTGC	154.5
<i>CyFAZ15</i>	CAAGAACTGGTCTAGCAGCCTCAG	ATGTGGCTGGACCTTGTGACTTAC	167.5

1.4 数据处理与统计分析

采用 Excel 2013 进行数据整理,采用 SPSS 23.0 软件进行试验数据统计分析($\alpha=0.05$),采用 Origin 2018 进行图形绘制。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫下菌根真菌与建兰共生体系的建立

由图 1 可见,未接种菌根真菌的 CK 处理没有观察到共生结构(图 1-a),而在接种处理中皆发现共生结构(图 1-b、图 1-c)。在对土壤进行的重分离中,以水分正常供应条件处理(WW)显著大于干旱条件处理(DS),表明干旱会降低菌根真菌在土壤中存活。就试验数据来看,无论在 WW 还是 DS 条件下,各菌根真菌处理(CE、TU、SE)均以 TU 处理较高;其中在 WW 中,各处理均差异不显著,而 DS 条件下,两两处理间均差异显著,以 TU 处理分离率最高,较 CE、SE 分别显著提高 11.33、4.66 百分点。

2.2 干旱胁迫下菌根真菌对建兰氧化系统的影响

由图 2-a 可知,丙二醛(MDA)指标中,WW 条件下,与 CK 处理相比,CE、TU、SE 处理分别显著降低 9.84%、13.51%、12.63%,但菌根真菌处理间两

两处理均无显著差异;DS 条件下趋势与 WW 条件下一致,其中 CK 处理显著高于菌根真菌处理 7.57% ~ 10.89%。由图 2-b 可知,超氧化物歧化酶(SOD)指标中,无论 WW 还是 DS 条件下,各处理皆以 CK 处理酶活性较低,菌根真菌处理较其显著提高 2.48% ~ 5.66% (WW)、5.63% ~ 8.45% (DS),且同一水分条件下菌根处理间均无显著差异。由图 2-c 可知,过氧化氢酶(CAT)活性中,整体以 DS 大于 WW,整体而言,以 DS-TU 处理 CAT 活性最高,余下处理较其降低 8.21% ~ 35.56%。各处理过氧化物酶(POD)规律与 CAT 基本一致(图 2-d)。由图 2-e 可知,超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)中,整体以 DS 大于 WW,WW 条件下,各处理呈 SE < TU < CE < CK,DS 条件下表现为 TU < CE < SE < CK,且无论 WW 还是 DS 条件下,菌根真菌处理皆显著低于 CK 处理。由图 2-f 可知, H_2O_2 含量中,以 DS 各处理整体大于 WW,且无论是 WW 还是 DS 条件下各处理均呈 CK < CE、SE < TU,其中 WW、DS 条件下菌根真菌处理较 CK 处理分别提高 5.43% ~ 12.79%、8.18% ~ 16.64%,且 WW 和 DS 条件下 TU 处理均显著大于 CK 处理。

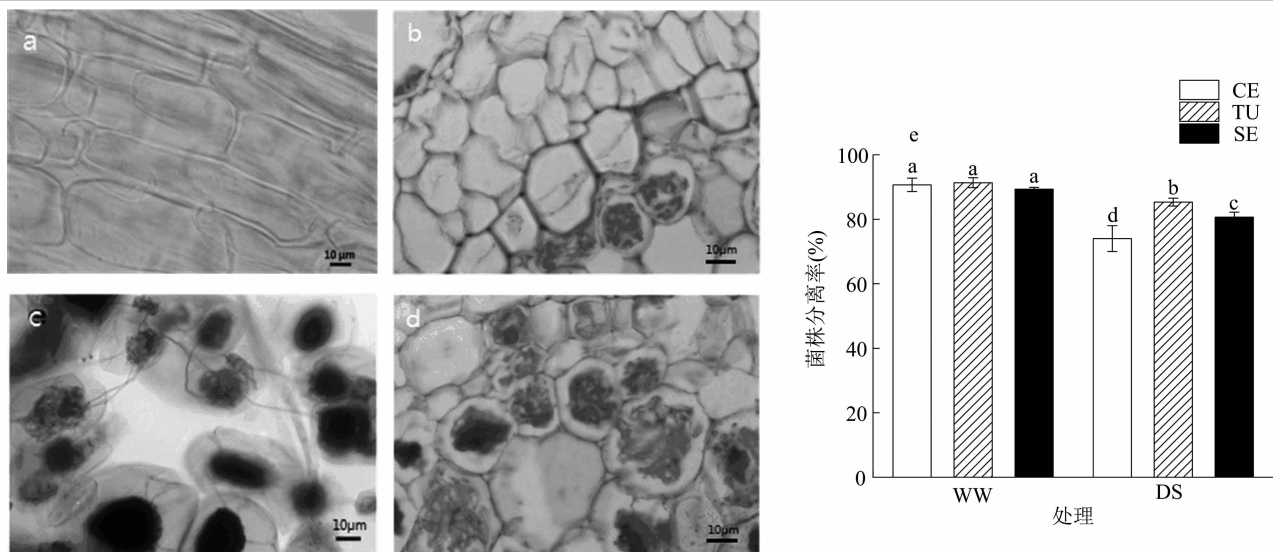


图 a、b、c、d 分别表示干旱胁迫环境中 CK、CE、TU、SE 处理下的菌根定殖情况；图 e 中柱图上不同小写字母表示不同处理间存在显著差异 ($P < 0.05$)。下图同

图1 干旱胁迫下菌根真菌与建兰共生体系的建立情况

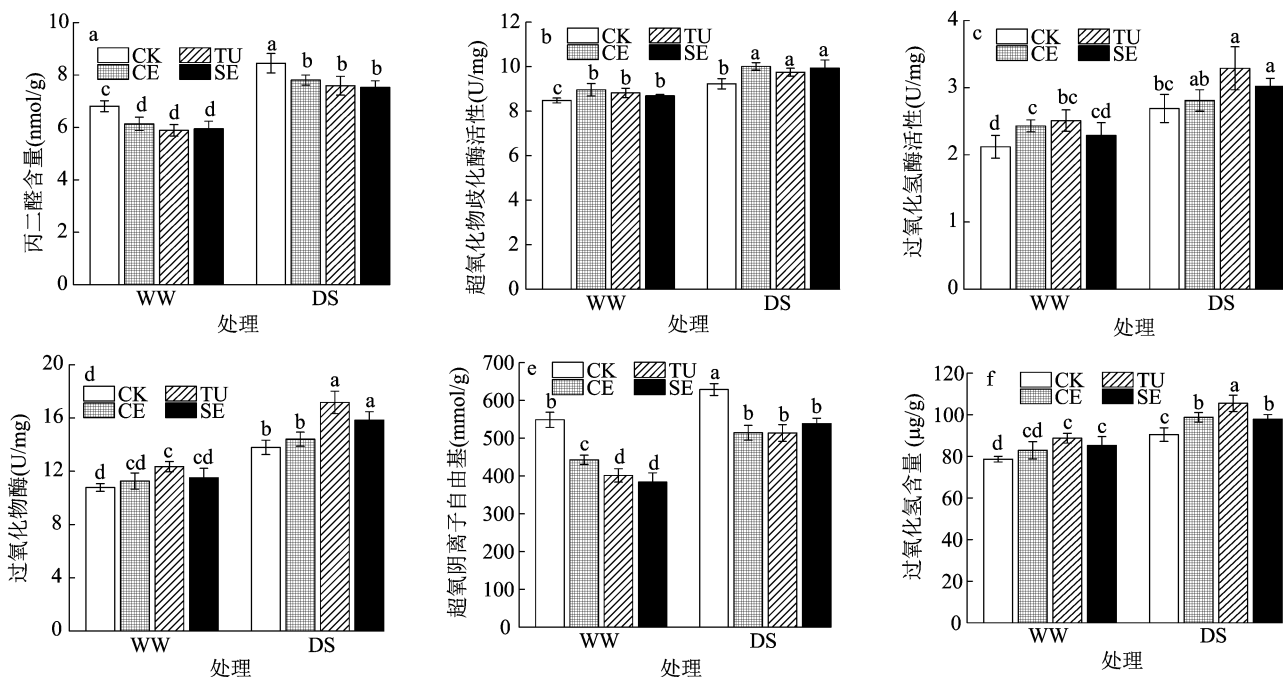


图2 干旱胁迫下菌根真菌对建兰氧化系统的影响

2.3 干旱胁迫下菌根真菌对建兰脂肪酸组成的影响

2.3.1 干旱胁迫下菌根真菌对建兰饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸组分的影响 基于 34 种脂肪酸 (FAs) 标准样品的 GC-MS 定量分析,在建兰根系中鉴定出 11 种饱和脂肪酸(SFA)和 10 种不饱和脂肪酸(UFA) (表 2)。根系中的主要 FAs 为棕榈酸 (C16:0) 和硬脂酸 (C18:0),二者分别占总 FAs 的 38.91% ~ 47.96% 和 26.05% ~ 30.15%。根系中

的主要 UFA 为油酸 (C18:1)、亚油酸 (C18:2) 和 α -亚油酸 (C18:3n3),分别占总 FAs 的 2.99% ~ 5.49%、9.86% ~ 13.84% 和 3.59% ~ 5.64%。与 WW 条件相比,DS 处理导致肉豆蔻烯酸 (C14:1)、棕榈油酸 (C16:1)、十七烯酸 (C17:1)、油酸 (C18:1)、亚油酸 (C18:2) 和 α -亚油酸 (C18:3n3) 的含量整体显著降低,而接种菌根真菌与否仅影响数值大小但不能改变这种趋势。在 SFA 组分中,无论 WW 还是 DS 条件下,与 CK 处理相比,菌根真菌接种处

表2 干旱胁迫下菌株对建兰饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸组分的影响

脂肪酸组分	WW 处理下的含量(μg/g)					DS 处理下的含量(μg/g)					显著性			
	CK	CE	TU	SE	CK	CE	TU	SE	菌株 (S)	水分 (W)	S×W			
	月桂酸(C12:0)	2.66 ± 0.27c	3.76 ± 0.34b	4.02 ± 0.39b	4.09 ± 0.66b	9.89 ± 0.63a	10.32 ± 0.89a	10.25 ± 0.56a	9.92 ± 0.67a	**	**	**	ns	
肉蔻酸(C14:0)	28.45 ± 1.58c	25.16 ± 1.37d	25.25 ± 0.79d	25.69 ± 0.92d	34.08 ± 1.12b	35.94 ± 1.06b	38.05 ± 1.15a	36.02 ± 0.88ab	**	ns	**	**		
十五烷酸(C15:0)	2.84 ± 0.44b	3.46 ± 0.75b	4.01 ± 0.81ab	3.29 ± 0.29b	3.33 ± 0.49b	4.63 ± 0.59a	4.92 ± 0.61a	4.62 ± 0.57a	*	**	**	ns		
棕榈酸(C16:0)	1 174.05 ± 38.78cd	1 159.86 ± 14.19d	1 146.54 ± 19.58d	1 099.73 ± 68.01d	1 211.32 ± 16.07c	1 275.57 ± 20.03b	1 473.19 ± 32.48a	1 406.55 ± 40.16a	**	*	**	**		
十七烷酸(C17:0)	26.08 ± 1.53bc	23.76 ± 1.48cd	23.49 ± 1.02d	24.12 ± 0.85cd	26.84 ± 1.34ab	29.38 ± 1.31a	27.88 ± 0.97ab	27.19 ± 1.14ab	**	**	ns	**		
硬脂酸(C18:0)	878.09 ± 13.49a	845.93 ± 12.38b	831.92 ± 8.16b	836.18 ± 9.82b	827.25 ± 4.16b	793.55 ± 12.26c	800.25 ± 11.29c	796.48 ± 7.59c	**	**	**	ns		
花生酸(C20:0)	24.02 ± 0.87d	22.54 ± 0.63e	22.37 ± 0.66e	21.86 ± 0.75e	29.03 ± 0.68a	27.68 ± 0.52b	26.25 ± 0.75c	26.01 ± 0.64c	**	*	ns	ns		
二十一烷酸(C21:0)	12.98 ± 0.49b	10.86 ± 0.85c	11.21 ± 0.64c	10.59 ± 0.71c	14.98 ± 0.79a	13.55 ± 0.83ab	14.02 ± 0.76ab	13.29 ± 0.96ab	**	**	**	ns		
山萘酸(C22:0)	51.39 ± 1.47c	49.54 ± 2.18c	49.23 ± 1.05c	48.21 ± 1.54c	58.10 ± 2.58b	66.67 ± 2.04a	67.15 ± 1.63a	69.42 ± 1.46a	**	**	**	**		
二十三碳酸(C23:0)	6.14 ± 0.35ab	6.62 ± 0.42a	6.91 ± 0.42a	6.48 ± 0.28a	6.59 ± 0.37a	5.89 ± 0.12b	5.84 ± 0.09b	6.03 ± 0.15b	ns	ns	*	*		
木醋酸(C24:0)	17.45 ± 0.71b	11.91 ± 0.57e	11.51 ± 0.46e	10.65 ± 0.53e	20.68 ± 0.31a	12.59 ± 0.51d	12.99 ± 0.75cd	14.45 ± 1.02c	**	**	**	**		
肉豆蔻烯酸(C14:1)	5.63 ± 0.21b	6.51 ± 0.18a	6.32 ± 0.56a	6.36 ± 0.21a	2.64 ± 0.33d	4.41 ± 0.24c	4.11 ± 0.41c	4.02 ± 0.31c	**	**	**	*		
棕榈油酸(C16:1)	0.99 ± 0.08b	2.35 ± 0.16a	1.95 ± 0.16a	2.01 ± 0.23a	0.50 ± 0.04c	0.46 ± 0.05c	0.52 ± 0.07c	0.49 ± 0.08c	*	**	**	*		
十七烯酸(C17:1)	13.72 ± 0.93bc	15.72 ± 0.99a	16.21 ± 0.87a	16.01 ± 0.56a	10.99 ± 0.15d	12.71 ± 0.89c	14.26 ± 0.81bc	15.02 ± 0.65ab	**	**	**	ns		
油酸(C18:1)	152.08 ± 3.65a	159.32 ± 5.29a	160.28 ± 5.93a	158.65 ± 2.73a	82.41 ± 5.12c	94.21 ± 2.99b	93.47 ± 1.86b	95.15 ± 2.05b	**	**	**	*		
亚油酸(C18:2)	327.31 ± 5.59b	408.78 ± 6.33a	405.22 ± 5.82a	399.73 ± 8.05a	271.40 ± 7.68d	305.48 ± 7.82c	311.28 ± 9.02c	296.02 ± 5.13c	*	*	**	**		
α-亚油酸(C18:3n3)	147.33 ± 3.54c	166.45 ± 1.28a	163.45 ± 2.07ab	162.94 ± 1.81b	112.07 ± 6.94d	110.47 ± 4.38d	110.32 ± 2.89d	109.65 ± 3.01d	*	**	**	**		
顺-11,14,17-二十二碳三烯酸(C20:3n3)	33.49 ± 1.47d	42.92 ± 1.64b	40.95 ± 1.53bc	38.79 ± 0.89c	23.18 ± 1.87e	42.07 ± 2.01ab	43.69 ± 1.77ab	46.27 ± 2.03a	**	**	**	**		
花生四烯酸(C20:4n6)	0.01 ± 0.01c	7.34 ± 2.05a	6.85 ± 1.49a	4.98 ± 1.67a	1.21 ± 0.12b	5.65 ± 0.63a	4.99 ± 0.58a	5.12 ± 0.92a	ns	**	**	*		
顺-13,16-二十二碳二烯酸(C22:2)	4.68 ± 0.28b	5.46 ± 0.37a	5.32 ± 0.52a	5.36 ± 0.31a	3.34 ± 0.31c	5.74 ± 0.51a	6.01 ± 0.69a	5.83 ± 0.65a	*	**	**	**		
神经酸(C24:1)	2.57 ± 0.22a	2.45 ± 0.13a	2.49 ± 0.37a	2.67 ± 0.29a	2.47 ± 0.07a	2.31 ± 0.09a	2.42 ± 0.09a	2.28 ± 0.11a	ns	ns	ns	ns		

注:未检测出的脂肪酸组分未列出,表中所列21种脂肪酸中前11种为饱和脂肪酸组分,后10种为不饱和脂肪酸组分。

理均显著降低了硬脂酸(C18:0)、花生酸(C20:0)、木醋酸(C24:0)含量。在UFA组分中,无论WW还是DS条件下,与CK处理相比,菌根真菌接种处理均显著增加了肉豆蔻烯酸(C14:1)、十七烯酸(C17:1)、亚油酸(C18:2)、顺-11,14,17-二十碳三烯酸(C20:3n3)、花生四烯酸(C20:4n6)、顺-13,16-二十二碳二烯酸(C22:2)的含量。

2.3.2 干旱胁迫下菌根真菌对建兰UFA/SFA比例的影响 由图3可知,处于干旱条件(DS)下各处理根系UFA/SFA比例皆显著低于正常水分处理(WW)。就WW条件而言,各处理呈CK < CE < TU < SE,与CK处理相比,CE、TU、SE处理分别显著提高22.19%、22.48%、23.35%,且CE、TU、SE两两处理间均无显著差异。在DS条件下,各处理呈CK < TU < SE < CE,较CE处理相比,余下处理显著降低6.16%~11.23%;与CK处理相比,CE、TU、SE处理则分别显著提高12.65%、4.70%、5.71%。

2.3.3 干旱胁迫下菌根真菌对建兰脂肪酸去饱和酶相关基因表达的影响 由图4可知,处于干旱条件(DS)下各处理根系*CyFAD2*、*CyFAD6*、*CyFAC9*的相对表达量皆整体高于正常水分处理(WW),而在*CyFAZ15*中则呈相反趋势。就*CyFAD2*而言,WW条件下CK显著低于接种菌根真菌处理;DS条件下亦以CK处理最低,其中与CE处理无显著差异,二

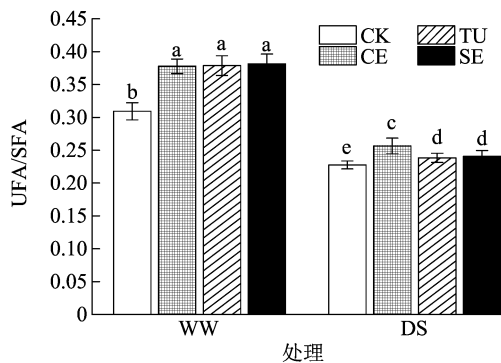


图3 干旱胁迫下菌根真菌对建兰UFA/SFA比例的影响

者均显著小于TU、SE处理;整体来看,以DS-TU显著大于其他处理,余下处理较其显著降低29.24%~87.47%(图4-a)。在*CyFAD6*中,无论WW还是DS条件下,皆以CK处理显著小于菌根真菌处理,且对应处理中均以DS显著大于WW(图4-b)。在*CyFAC9*中,WW条件下,以菌根真菌处理小于CK处理,但两两处理间均无显著差异;在DS条件下,与CK处理相比,菌根真菌处理提高,其中TU处理显著大于CK(图4-c)。在*CyFAZ15*中,WW条件下较CK处理相比,菌根真菌处理显著提高476.47%~539.71%;DS条件下,菌根真菌处理亦高于CK处理,但处理间均无显著差异(图4-d)。

2.4 干旱胁迫下菌根真菌对建兰水分利用的影响 由图5可知,在水分利用效率(WUE)和相对含

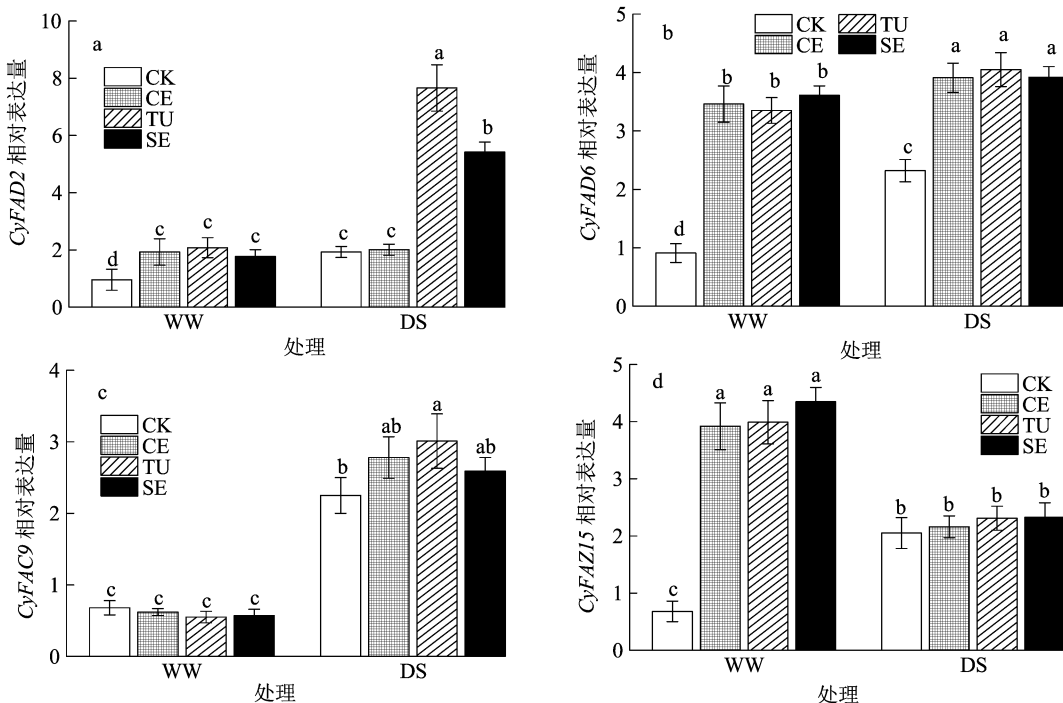


图4 干旱胁迫下菌根真菌对建兰脂肪酸去饱和酶相关基因表达的影响

水量(RWC)指标中,整体以 WW 大于 DS。无论 WW 还是 DS 条件下,与其相应水分条件的 CK 处理相比,胶膜菌(*Tulasnella* sp.)、角担菌(*Ceratobasidium* sp.)和蜡壳菌(*Sebacina* sp.)皆整体提高了上述水分利用参数,且胶膜菌处理(TU)下各水分利用参数皆具有较优值。在 WW 条件下,WUE、RWC 均呈

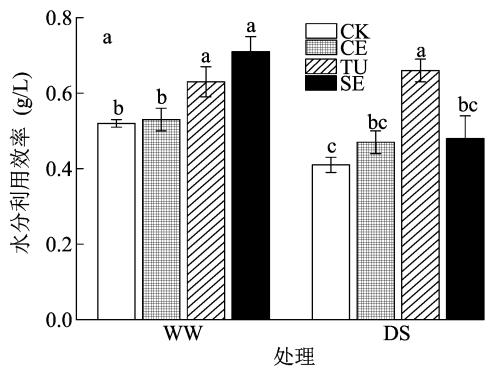
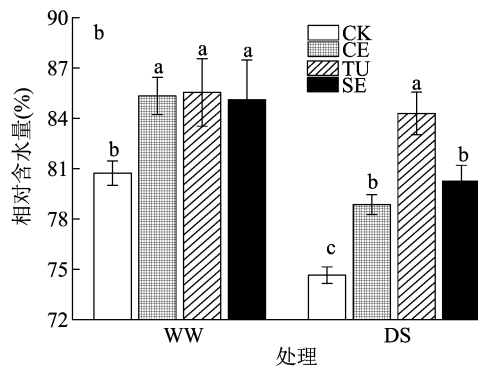


图5 干旱胁迫下菌根真菌对建兰水分利用的影响

CK < SE、CE < TU,且在 RWC 参数中皆表现为菌根真菌接种处理(CE、TU、SE)显著大于 CK 处理。在 DS 条件下,水分利用参数指标均呈 CK < CE < SE < TU,且皆以 TU 处理显著大于 CK、CE、SE 处理,尤其表现在 RWC 中;RWC 指标中 CK、CE、SE 处理较 TU 处理分别显著降低 11.44%、6.44%、4.78%。



3 讨论

兰科菌根作为陆生植物主要的菌根类型之一,其共生关系贯穿了兰科植物从种子萌发到开花的整个生长史^[11]。角担菌(*Ceratobasidium* sp.)、胶膜菌(*Tulasnella* sp.)和蜡壳菌(*Sebacina* sp.)是土壤中 3 种重要的功能性兰科菌根真菌,三者形态学、基因结构上较为相似^[17],然而关于三者的功能强弱知之甚少。本研究中,从建兰根系分离出的角担菌(*Ceratobasidium* sp.)、胶膜菌(*Tulasnella* sp.)和蜡壳菌(*Sebacina* sp.)均可与小桃红建立共生关系,正常水分条件(WW)下,该 3 株真菌的土壤分离率为 89.33%~91.33%;而干旱胁迫条件(DS)下分离率均显著下降,表明干旱胁迫对菌根共生存在不利影响,其中无论是否干旱胁迫下胶膜菌接种处理(TU)皆最高,其中干旱胁迫下 TU 处理显著高于角担菌(CE)和蜡壳菌(SE)。

脂肪酸(FAs)是细胞膜的主要组成部分,FAs 分为饱和脂肪酸(SFA)和不饱和脂肪酸(UFA),SFA 与 UFA 间的转化对细胞的生理功能起着重要作用^[18],较高的 UFA 含量被视为植物耐旱性的重要体现。本研究发现棕榈酸(C16:0)、硬脂酸(C18:0)、油酸(C18:1)、亚油酸(C18:2)和 α -亚油酸(C18:3n3)是建兰根系 FAs 的主要成分;与 CK 处理相比,接种菌根真菌处理在 WW 和 DS 条件下均表现出更高的 UFA/SFA 值,接种菌根真菌处理提高植株脂肪酸不饱和度归因于 SFA 减少(主要为

C18:0、C20:0、C24:0)和 UFA 增加(主要为 C14:1、C17:1、C18:2 和 C20:3n3、C20:4n6、C22:2),这意味着接种菌根真菌可保持细胞膜的流动性,从而提高植株水分利用效率^[19]。

组织中 FAs 的组成和不饱和度显著影响细胞膜脂质流动性,其饱和度主要由 FAs 去饱和酶基因表达调控^[20]。本研究中,与 CK 处理相比,DS 条件下菌根真菌处理的 *CyFAC9* 表达量发生显著上调,而在 WW 下没有明显差异。在高等植物中 *FAC9* 可调控棕榈酸、硬脂酸双键的合成,从而转化为棕榈油酸(C16:1)、油酸(C18:1)^[18]。因此 DS 条件下 *CyFAC9* 表达上调导致菌根真菌接种处理中 C18:1 含量增加。前人研究表明,*FAZ15* 的表达可使 C18:2 去饱和转化为 α -亚油酸(C18:3n3)^[21]。WW 条件下,与 CK 处理相比,接种菌根真菌处理根系中 C18:3n3 含量的显著升高归因于 *CyFAZ15* 的超高表达。此外,本研究表明建兰根系中 *CyFAD2*、*CyFAD6* 的表达模式与亚油酸(C18:2)含量的变化趋势基本一致;然而,本研究中,并非所有基因都与其相应 FAs 含量呈完全一致的趋势,例如 *CyFAC9* 的表达模式与 C16:1(在 WW 和 DS 下)和 C18:1 含量变化之间存在差异性。这可能是由于:(1)单个脂肪酸的去饱和酶由多个基因控制,而不是由单个基因控制^[18,22];(2)植物根部的 FAs 含量存在动态变化,FAs 去饱和酶基因的上调表达并不一定意味着其相应的 FAs 积累更多^[8,20]。

正常环境条件下植物细胞内活性氧的产生和

消除之间是一个动态平衡的过程,而逆境胁迫下活性氧会超量积累从而导致脂质过氧化和氧化应激^[3,23]。超氧阴离子自由基($O_2^- \cdot$)是一种重要的活性氧物质,是体内有氧代谢的主要副产物,可破坏多种生物分子,特别是具有不饱和键的 UFAs^[24]。一旦 UFAs 受到活性氧影响,UFAs 就会发生氧化,导致 UFAs 含量减少和丙二醛(MDA)过量积累^[20]。本研究表明,建兰植株在 WW 或 DS 条件下的菌根真菌处理(CE、TU、SE)的 $O_2^- \cdot$ 和 MDA 浓度显著低于非菌根处理,而抗氧化酶(SOD、CAT、POD)活性和 H_2O_2 含量更高,意味着菌根真菌可有效降低氧化应激和脂膜过氧化带来的损伤。这与前人在干旱胁迫下菌根真菌对三叶橙幼苗的研究结果^[25]一致。

水分利用参数可反映环境水分不足时植物组织在蒸腾作用过程中的耗水程度和恢复能力的差异^[26]。本研究表明,与 WW 相比,DS 环境下的水分利用效率(WUE)及相对含水量(RWC)均较低,且无论 WW 还是 DS 条件下,CE、SE 处理皆提高了 WUE 和 RWC,但整体以 SE 处理优于 CE 处理。前人研究表明兰科菌根真菌自由菌丝是亲水性蛋白菌丝,可有效吸附水分,或通过保护自由菌丝免受外部环境干燥的影响^[27],这可能是兰科菌根真菌处理提高水分利用的原因。此外,本研究表明无论 WW 还是 DS 条件下,TU 处理均具有较大值,且较 WW-CK 处理相比,WUE、RWC 指标中 DS-TU 处理分别显著提高 26.92%、4.41%。

4 结论

本研究表明,接种角担菌(*Ceratobasidium* sp.)、胶膜菌(*Tulasnella* sp.)和蜡壳菌(*Sebacina* sp.)提高了建兰通过调控脂肪酸去饱和酶基因(*CyFAD2*、*CyFAD6*、*CyFAC9*、*CyFAZ15*)的表达,显著增加了正常水分(WW)和干旱条件(DS)条件下建兰根系肉豆蔻烯酸(C14:1)、十七烯酸(C17:1)、亚油酸(C18:2)、顺-11,14,17-二十碳三烯酸(C20:3n3)、花生四烯酸(C20:4n6)、顺-13,16-二十二碳二烯酸(C22:2)含量以及降低了硬脂酸(C18:0)、花生酸(C20:0)、木醋酸(C24:0)的合成;菌根化建兰根系脂肪酸的组成变化导致根系脂肪酸的不饱和指数更高,此外,菌根真菌显著降低了丙二醛和超氧阴离子自由基含量,这有助于降低氧化损伤。从水分利用试验数据结果来看,干旱胁迫下以

接种胶膜菌(*Tulasnella* sp.)效果较佳。

参考文献:

- [1] Zhang F, Zou Y N, Wu Q S, et al. Arbuscular mycorrhizas modulate root polyamine metabolism to enhance drought tolerance of trifoliolate orange [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2020, 171: 103926.
- [2] 杨利, 王波, 李文姣, 等. 干旱胁迫下 ROS 的产生、清除及信号转导研究进展[J]. *生物技术通报*, 2021, 37(4): 194-203.
- [3] 李海霞. 六个牡丹品种对干旱胁迫的生理响应机制及抗性评价[J]. *北方园艺*, 2021(4): 64-71.
- [4] 杨芳, 乔岩, 金中辉, 等. 高温胁迫对马铃薯幼苗活性氧代谢及生理特性的影响[J]. *江苏农业科学*, 2022, 50(11): 97-103.
- [5] 杨舒怡, 陈晓阳, 惠文凯, 等. 逆境胁迫下植物抗氧化酶系统响应研究进展[J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2016, 45(5): 481-489.
- [6] Baoukina S, Rozmanov D, Tieleman D P. Composition fluctuations in lipid bilayers [J]. *Biophysical Journal*, 2017, 113(12): 2750-2761.
- [7] Mikami K, Murata N. Membrane fluidity and the perception of environmental signals in cyanobacteria and plants [J]. *Progress in Lipid Research*, 2003, 42(6): 527-543.
- [8] Su K M, Moss J Q, Zhang G L, et al. Membrane lipid composition and drought tolerance in bermudagrass [J]. *International Turfgrass Society research journal*, 2013, 12: 445-452.
- [9] Zhong D H, Du H M, Wang Z L, et al. Genotypic variation in fatty acid composition and unsaturation levels in bermudagrass associated with leaf dehydration tolerance [J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2011, 136(1): 35-40.
- [10] Toumi I, Gargouri M, Nouairi I, et al. Water stress induced changes in the leaf lipid composition of four grapevine genotypes with different drought tolerance [J]. *Biologia Plantarum*, 2008, 52(1): 161-164.
- [11] 杨前宇, 何聪芬, 梁立雄, 等. 菌根真菌对 3 种兰花幼苗生长作用研究 [J]. *核农学报*, 2019, 33(4): 687-695.
- [12] Zhao X L, Yang J Z, Liu S, et al. The colonization patterns of different fungi on roots of *Cymbidium hybridum* plantlets and their respective inoculation effects on growth and nutrient uptake of orchid plantlets [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2014, 30(7): 1993-2003.
- [13] 陈宝玲, 杨开太, 黄森, 等. 有益菌根真菌及其互作对带叶兜兰试管苗生理生长的影响 [J]. *西南林业大学学报(自然科学)*, 2022, 42(2): 19-25.
- [14] 高俊凤. *植物生理学实验指导* [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [15] 郑燕, 刘舒雅, 曹映辉, 等. 建兰大青花朵脂肪酸类物质萃取条件优化及成分分析 [J]. *甘肃农业大学学报*, 2021, 56(6): 127-132, 141.
- [16] 曹映辉, 郑燕, 张燕萍, 等. 建兰花香物质合成相关基因 qRT-PCR 内参基因筛选 [J/OL]. *分子植物育种*: 1-11 [2022-07-28]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20210510>.

卢青,何季,吴传美,等. 不同植茶年限下四球茶茶园土壤性状及茶叶品质特征[J]. 江苏农业科学,2023,51(2):168-175.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.02.025

不同植茶年限下四球茶茶园土壤性状及茶叶品质特征

卢青¹,何季¹,吴传美¹,向仰州²,刘鸿雁¹

(1. 贵州大学农学院,贵州贵阳 550025; 2. 贵州师范学院地理与资源学院,贵州贵阳 550018)

摘要:为探索贵州普安珍稀四球茶茶园在不同种植年限下的土壤肥力及茶叶品质特征,应用实地研究和室内分析结合的试验方法,以普安县不同植茶年限(5年、15年、25年及40年)四球茶为研究对象,开展土壤特性、茶叶品质以及两者之间关联性的研究。结果表明:(1)四球茶茶园土壤的 pH 值在 4.49~5.07 之间,有机质含量在植茶 25 年达到最高,CEC 值、容重在植茶 40 年时达到最高,碱解氮、速效钾含量在植茶 40 年最低,有效磷含量在植茶 15 年达到最高。且有机质、碱解氮含量在茶园土壤分级标准中属于 I 级标准,土壤 pH 值属于 II 级标准,而有效磷含量属于 III 级标准。(2)不同植茶年限下咖啡碱、可溶性糖、游离氨基酸含量及酚氨比有显著差异,茶多酚差异不显著,咖啡碱及可溶性糖含量为植茶 15 年和 25 年时较高,游离氨基酸总量为植茶 5 年和 15 年时较高,酚氨比随植茶年限的增加逐渐增加。(3)CEC 值、速效钾、土壤 pH 值是茶树新稍叶片主要生化成分的重要影响因素。综上,人工种植四球茶时,应适当补充磷肥或者增施有机肥提高有效磷含量。此外,四球茶品质在植茶 15 年时较佳,种植前期(植茶 25 年之前)适合制作绿茶。

关键词:四球茶;植茶年限;茶叶品质;通径分析;土壤肥力

中图分类号:S571.106 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)02-0168-08

茶树是山茶科常绿乔木植物^[1]。贵州省由于

气候温和,冬暖夏凉,终年多雨,地势高差大,立体气候明显,这使得贵州在茶叶生产要素方面具有得天独厚的优势^[2]。近年来,由于经济快速发展,人们生活水平显著提高,对茶叶品质的要求也越来越高^[3]。土壤是茶树生存和生长的基质,茶树生长发育所需的营养成分大多来源于土壤的供给^[4]。研究发现,土壤酸碱性、孔隙性以及氮、磷、钾含量等均对茶树生长及茶叶品质有重要影响^[5]。叶江华等研究发现,土壤 pH 值与茶叶品质含量呈显著负

收稿日期:2021-12-28

基金项目:国家自然科学基金委员会-贵州省人民政府联合基金(编号:U1612442);贵州省科技计划(编号:黔科合基础[2019]1106号)。

作者简介:卢青(1994—),女,贵州黔西人,硕士研究生,主要从事茶园土壤研究。E-mail:1336213189@qq.com。

通信作者:何季,博士,讲师,主要从事农业资源与环境研究。E-mail:heji15@163.com。

[17]陈艳红,邢晓科,郭顺星. 兰科植物与菌根真菌的营养关系[J]. 菌物学报,2017,36(7):807-819.

[18]王利民,符真珠,高杰,等. 植物不饱和脂肪酸的生物合成及调控[J]. 基因组学与应用生物学,2020,39(1):254-258.

[19]Zhang M, Barg R, Yin M G, et al. Modulated fatty acid desaturation via overexpression of two distinct $\omega-3$ desaturases differentially alters tolerance to various abiotic stresses in transgenic tobacco cells and plants[J]. The Plant Journal, 2005, 44(3):361-371.

[20]Wu Q S, He J D, Srivastava A K, et al. Mycorrhizas enhance drought tolerance of citrus by altering root fatty acid compositions and their saturation levels[J]. Tree Physiology, 2019, 39(7):1149-1158.

[21]曹福亮,王欢利,郁万文,等. 高等植物脂肪酸去饱和酶及编码基因研究进展[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2012,36(2):125-132.

[22]闵文莉,曹喜涛,季更生,等. 调控脂肪酸合成植物转录因子的研究进展[J]. 发酵科技通讯,2017,46(2):107-112.

[23]祁伟亮,孙万仓,马骊. 活性氧参与调控植物生长发育和胁迫应激响应机理的研究进展[J]. 干旱地区农业研究,2021,39(3):69-81,193.

[24]Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life[J]. Plant Physiology, 2006, 141(2):312-322.

[25]Huang Y M, Zou Y N, Wu Q S. Alleviation of drought stress by mycorrhizas is related to increased root H₂O₂ efflux in trifoliolate orange[J]. Scientific Reports, 2017, 7:42335.

[26]林兵,武胜利,葛欢欢,等. 灌溉量对不同林龄胡杨光合特性和水分利用效率的影响[J]. 江苏农业科学,2021,49(3):125-132.

[27]刘娜,赵泽宇,姜喜铃,等. 菌根真菌提高植物抗旱性机制的研究回顾与展望[J]. 菌物学报,2021,40(4):851-872.