DOI:10.13758/j.cnki.tr.2005.01.019

柑橘砧木和砧穗组合对丛枝菌根发育的影响①

吴强盛[1] 夏仁学[1*] 郭文武[2] 周开兵[1] 胡利明[1]

（1 华中农业大学园艺林学学院 武汉 430070；2 华中农业大学作物遗传改良国家重点实验室 武汉 430070）

摘 要 在2003年8月研究了田间5种不同砧穗组合的柑橘品种和盆栽的5种柑橘砧木(包括2种异源四倍体体细胞杂种砧木)对丛枝菌根发育的影响。结果表明，柑橘丛枝菌根侵染幅度为4.88 %～40.52 %，土壤内孢子密度不等，大致在347～750个孢子/kg(干土)内。田间菌根侵染率和孢子密度在不同土层深度的分布以深度10～20 cm为最高。遗传关系相近的国庆1号/枳和国庆4号/枳组合间以及红肉脐橙/罗伯逊脐橙36号/枳和纽荷尔脐橙/罗伯逊脐橙36号/枳间的丛枝菌根发育没有显著差异，与红肉脐橙和纽荷尔脐橙遗传关系远的脐血橙组合，较红肉脐橙和纽荷尔脐橙组合的孢子密度间有极显著差异。红桔+枳的菌根侵染率和土壤孢子密度均最高，且显著高于其他4种砧木。盆栽砧木孢子密度与菌根侵染率呈显著正相关性。10种试材的根围土壤孢子密度与菌根侵染率间呈极显著正相关性。

关键词 柑橘；砧穗组合；砧木；丛枝菌根；丛枝菌根真菌

中图分类号 S 666

丛枝菌根（arbuscular mycorrhiza, AM）是一种与果树根系紧密结合互惠互利的共生体，参与丛枝菌根形成的真菌称为丛枝菌根真菌（arbuscular mycorrhizal fungi）。在苹果、梨、桃、柑橘等果树根系中可以找到丛枝菌根的结构。

大量研究表明，接种丛枝菌根真菌有利于寄主植物从土壤中吸收更多的矿质营养元素，如P、Zn、Cu等，促进寄主植物生长，影响物质代谢，改善植物的水分代谢和水分状况，提高抗旱性，增强抗病性等[1~4]。关于果树丛枝菌根的田间研究报告甚少[5~7]，柑橘砧木和不同砧穗组合对柑橘丛枝菌根发育的影响国内外未见报道。基于此，本试验研究了田间和盆栽条件下不同柑橘砧穗组合和砧木的丛枝菌根发育状况及其之间的差异性，探讨孢子密度和菌根侵染率的相关性，为丛枝菌根在柑橘田间应用及其研究提供一些依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料和设计

田间试验点选在湖北省秭归县柑橘良种示范场和华中农业大学标本园。立地条件为：秭归县柑橘良种示范场位于海拔280～300 m阳坡，园土为石灰性土壤，pH 7.05，有机质含量7.1 g/kg，碱解N 51.9 mg/kg，速效P 4.79mg/kg，速效K 35.24 mg/kg；于1987年建园，1998年春季高接换种。华中农业大学标本园园土为黄壤土，pH 5.15，有机质含量9.8 g/kg，碱解N 65.1mg/kg，速效P 5.02 mg/kg，速效K 94.0 mg/kg；于1981年建园。脐血橙 (Washington Sanguine) / 罗伯逊脐橙36号 (Robertson No.36) / 枳 (Trifoliate)、红肉脐橙(Caca Caca) /罗伯逊脐橙36号/枳、纽荷尔脐橙(Newhall)/罗伯逊脐橙36号/枳3种试材于2003年8月14日在湖北省秭归县柑桔良种示范场取样；国庆1号（Guoqing No.1）/枳、国庆4号(Guoqing No. 4)/枳试材于2003年8月17日在华中农业大学标本园取样。

盆栽试验点选在国家果树脱毒种质资源室内保存中心的网室大棚进行。盆栽土理化性状：有机质含量13.0 g/kg，pH 5.56，碱解N 65.8 mg/kg，速效P 1.63mg/kg，速效K 107.28mg/kg。5种盆栽柑桔砧木为枳、枳橙(Troyer Citrange)、枳柚(Swingle Citrumelo) 、红桔+枳[8]（Red tangerine +Trifoliate）、红桔+粗柠檬[9](Red tangerine +Rough lemon)。其中前3种砧木于2000年春季播种，2001年上盆；后2种异源四倍体体细胞杂种砧木于 1999 年春季将试管自根苗移栽于温室营养钵中，2001 年上盆。于2003年8月17日进行取样。

①国家科技部科技促进三峡移民开发专项（S200110）资助。

*通讯作者

试验树均长势良好，常规管理。田间每一柑橘品种 3 株为小区，3 次重复，随机排列。盆栽砧木为单株单盆小区，4 次重复，随机排列。

1.2 取样及处理

取样时，去除树盘表面 2 ~ 5 cm 的表层土，用小铲锹挖取 5 ~ 15 cm 土层带有一定量的细土和当年生的细根供检测。在树盘下开穴于不同土层深度取土。细土 1 份用于孢子的计量，1 份用于土壤含水量的测定。获取的根系清水冲洗干净后，剪取 1 ~ 2 cm 长的根段用 FAA 固定液固定。

1.3 测定方法

孢子的筛析采用 Gerdemann 和 Nicolson[10]设计的湿筛倾析法，收集的过筛残留物置于培养皿中，于 XTS 30 双目体视显微镜下计数。菌根侵染率的测定参考 Phillips 和 Hayman[11]的方法进行。

菌根侵染率(%)＝菌根感染的根段长度/检查根段的总长度×100 %。

1.4 统计分析

采用 SAS 软件 ANOVA 过程作菌根侵染率和孢子密度的差异显著性测验，采用 LSD 法作多重比较分析，采用 SAS 软件 REG 过程作一元线性回归分析。

2 结果与分析

2.1 田间不同砧穗组合的柑橘菌根侵染率和孢子密度

2.1.1 不同砧穗组合的比较 从表 1 可以看出，在标本园的 2 种柑橘砧穗组合间的丛枝菌根侵染率和土壤孢子密度都没有显著差异。在秭归柑桔良种示范场采样点的 3 个组合中，脐血橙/罗伯逊脐橙 36 号/枳的菌根侵染率最高，达 40.52 %，红肉脐橙/罗伯逊脐橙 36 号/枳的最低，仅 15.93 %，三者菌根侵染率差异不显著。3 种砧穗组合的柑橘土壤孢子密度呈极显著差异，脐血橙/罗伯逊脐橙 36 号/枳组合的孢子密度极显著地高于其他 2 种砧穗组合，其中脐血橙/罗伯逊脐橙 36 号/枳的孢子密度达到 650 个孢子/kg 干土，红肉脐橙/罗伯逊脐橙 36 号/枳的最低，仅 379 个孢子/kg 干土。

2.1.2 不同土层深度的分布 从表 2 可见，田间柑橘菌根侵染率与孢子密度在不同土层深度呈现先增后减的分布规律，都是在 10 ~ 20 cm 的土层深度最高。丛枝菌根的发育状况在不同土层不同，从菌根侵染率来看，两种组合的柑橘相似，以 30 ~ 40 cm 的土层深度最低。从土壤孢子密度分析，以＞40 cm 的土层分布最低。总之，在 40 cm 以上的土层丛枝菌根真菌孢子数量占全部调查土层总孢子数量的 92 % ~ 97 % 。

2.2 盆栽柑橘砧木菌根侵染率和孢子密度

盆栽柑橘砧木的种类对菌根侵染率和土壤孢子密度有显著影响。红桔+枳的菌根侵染率和土壤孢子密度均最高，且显著高于其他 4 种砧木。除红桔+

表 1 田间不同砧穗组合的柑橘菌根侵染率和孢子密度

Table 1 Effect of different citrus rootstock/scion combination on mycorrhizal colonization rate and spore density in the field

试验点	砧穗组合	菌根侵染率(%)	孢子密度（个/kg 干土）
标本园	国庆 1 号/枳	36.41 a	646 a
	国庆 4 号/枳	31.16 a	750 a
秭归柑桔良种示范场	脐血橙/罗伯逊脐橙 36 号/枳	40.52 a	650 A
	红肉脐橙/罗伯逊脐橙 36 号/枳	15.93 a	379 B
	纽荷尔脐橙/罗伯逊脐橙 36 号/枳	24.67 a	475 B

注：小写字母表示处理间达到显著水平（P≤0.05），大写字母表示处理间达到极显著水平（P≤0.01），下同。

表 2 田间菌根侵染率与孢子密度在不同土层深度的分布

Table 2 Variation of citrus mycorrhizal colonization rate and spore density with the depth of the soil in the field

土层深度(cm)	国庆1号/枳		国庆4号/枳	
	菌根侵染率(%)	孢子密度（个/kg 干土）	菌根侵染率(%)	孢子密度（个/kg 干土）
0 ~ 10	20.28 b	563 C	24.53 B	826 AB
10 ~ 20	42.09 a	1218 A	42.5 A	1010 A
20 ~ 30	14.74 b	887 B	38.03 A	800 B
30 ~ 40	9.58 b	784 B	13.33 B	726 B
＞40	-	112 D	-	290 C

枳外，其他的 4 种柑橘砧木中，以生产中最为常见的枳菌根侵染率和孢子密度最低，但无显著差异(表 3)。

2.3　菌根侵染率与孢子密度的回归分析

对田间和盆栽的柑橘菌根侵染率与孢子密度进行回归分析，结果表明盆栽条件下的柑桔砧木土壤孢子密度与菌根侵染率呈现显著正相关（图 1），这说明盆栽条件下柑橘砧木菌根侵染率受土壤孢子密度的影响。虽然田间 5 种柑橘砧穗组合的土壤孢子密度与菌根侵染率间没有显著相关性，但若对盆栽和田间条件下 10 种试材的孢子密度和菌根侵染率进行回归分析，结果表明土壤孢子密度与菌根侵染率呈极显著正相关（图 2）

表3　盆栽柑橘菌根侵染率和孢子密度

Table 3　Mycorrhizal colonization rate and spore density with citrus under the pot culture

砧木	菌根侵染率（%）	孢子密度（个/kg 干土）
红桔+枳	26.24 a	708 a
红桔+粗柠檬	9.48 b	383 b
枳	4.88 b	347 b
枳 橙	11.39 b	378 b
枳 柚	11.43 b	374 b

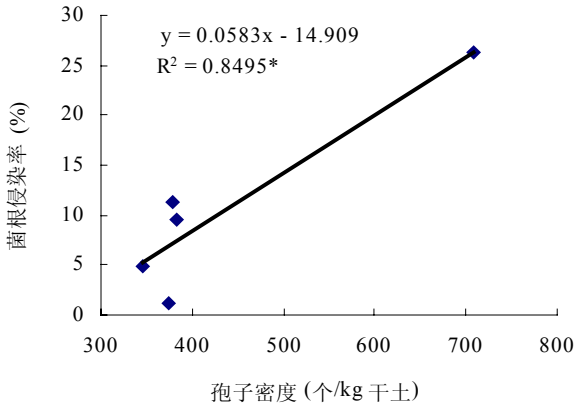

图 1　盆栽5种砧木的孢子密度与菌根侵染率间的回归分析

Fig. 1　The regression analysis of spore density and mycorrhizal colonization rate of five rootstocks under pot culture

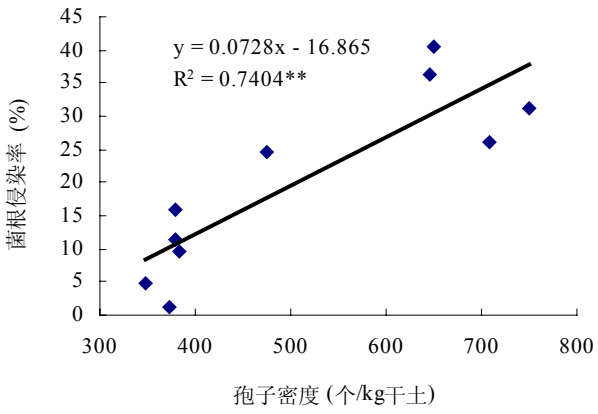

图 2　盆栽5种砧木和田间5种砧穗组合的孢子密度与菌根侵染率间的回归分析

Fig. 2　The regression analysis of spore density and mycorrhizal colonization rate of ten citrus under pot culture and in the field culture

3　讨 论

3.1　不同砧穗组合对菌根发育的影响

本研究结果表明，同一立地条件下不同砧穗组合，即接穗品种对菌根发育产生明显影响。在华中农业大学标本园的2种组合（国庆1号/枳和国庆4号/枳）间的菌根侵染率和孢子密度表现没有差异，可能是因为国庆1号和国庆4号都是从早熟温州蜜柑品系中通过芽变选种获得的，亲缘关系近。在秭归县柑桔良种示范场的3种砧穗组合中，高接品种对菌根的发育有影响，高接脐血橙的组合明显高于纽荷尔和红肉脐橙的组合，且孢子密度表现极显著差异；高接纽荷尔的组合与红肉脐橙的组合间没有差异，或许是因为纽荷尔脐橙和红肉脐橙都是从华盛顿脐橙中选育的，亲缘关系近；而脐血橙不是从华盛顿脐橙中选育出，与纽荷尔脐橙和红肉脐橙的亲缘关系较远，但其原因尚待进一步研究。

3.2　不同砧木对菌根发育的影响

有研究表明，在盆栽土壤灭菌条件下接种丛枝菌根的柑橘砧木品种中以枳的菌根发育最差[12]。本研究表明，5种盆栽砧木都不同程度地感染丛枝菌根，体细胞杂种红桔+枳的菌根侵染率和孢子密度最高，枳及含枳的有性杂种均不及红桔+枳，这可能是由于红桔+枳继承了红桔的一些特性，使其根系分泌一些可溶性化学物质或者不稳定的信号，从而对丛枝菌根发育起正效应，还可能与丛枝菌根对寄主植物有效性有关[13]。朱丽霞等[14]认为，丛枝菌根的形成、发育和功能受根系分泌物和根际微生物及其与

菌根真菌的相互作用（拮抗作用和刺激作用）影响。我们分析认为，砧木对盆栽柑橘砧木丛枝菌根的发育受多因素影响。枳橙和枳柚已成为目前美国的主要柑橘砧木，从本试验也可以得出，该两种砧木的菌根发育仅比红桔+枳差，比枳（中国主要柑橘砧木）强。因此，在我国枳橙和枳柚有可能成为以后柑橘推广的新良种砧木品种。

3.3 不同土层菌根发育状况

丛枝菌根真菌为一种好氧真菌，孢子和菌丝生长都需要一定氧气，而丛枝菌根同样需要通气条件。因此土壤透气性是影响丛枝菌根生长发育的重要因子之一[15]。本试验表明，菌根的发育在不同土层深度有所不同。在0 ~ 10 cm土层，由于土壤透气性良好，但土壤理化性状变化较大，造成菌根发育并不最好。在10 ~ 20 cm土层时，土壤通透性及理化性状比较稳定，因此菌根发育状况达到最佳。在20 cm以下的土层，菌根的发育状况随着透气性和营养等条件的降低而降低。因此，土壤的透气性和营养等条件都可能会影响丛枝菌根在土层的分布和发育。

3.4 菌根侵染率与孢子密度的相关性

试验表明，盆栽砧木的孢子密度与菌根侵染率回归分析显著正相关，田间5种砧穗组合的柑橘回归分析无显著相关性，这可能是由于丛枝菌根真菌是一种土壤习寄菌，各种生态条件如土壤、气候因子、地理环境、农业措施等都会影响到AM菌根的发育状况，特别是土壤、水、肥、气热、微生物五大因素对丛枝菌根影响最大[16]。盆栽条件下柑橘丛枝菌根受到的不利影响少于田间条件，从而表现出孢子密度与菌根侵染率呈显著正相关，而田间没有显著相关性。还可能因为观察的土壤中部分孢子虽然形态完好，但已没有生命力或活性，因而不能侵染植物根系。

一般条件下，柑橘的根毛数量少且短，甚至有时很难发现根毛。本试验的结果表明，丛枝菌根在柑桔上普遍存在，且孢子密度与菌根侵染率存在正相关性。因此，若在自然土壤状态下接种丛枝菌根的孢子会增加菌根对柑橘的侵染，从而促进柑橘从土壤中吸收更多的养分和水分。因此，在今后柑橘苗木培育过程中应进行幼苗的接种，培育健壮、抗性强的菌根化柑橘苗木。Menge[17]和万水林等[18]曾先后提出柑橘接种技术的方案，本试验的结果也进一步为丛枝菌根作为一种新型“生物肥料”在柑橘田间生产中的应用给出了一些依据。

参考文献

1 吴强盛, 夏仁学. 果树VA菌根研究与应用. 植物生理学通讯, 2003, 39 (5): 526 ~ 530

2 葛均青, 于贤昌, 王竹红. VAM对植物矿质营养的效应. 土壤, 2002, 34 (6): 337 ~ 343

3 王守生, 何首林, 王德军, 方德华, 关光权, 别之龙. VAM真菌对茶树营养生长和茶叶品质的影响. 土壤学报, 1997, 34 (1): 97 ~ 102

4 Yao Q, Qing FL, Li XL, Christie P. Utilization of sparing soluble phosphate by red clover in association with *Glomus mosseae* and *Bacillus megaterium*. Pedosphere, 2002, 12 (2): 131 ~ 138

5 高克祥, 李晓芬, 郗荣庭, 王国英. 苹果树VA菌根形态结构观察. 河北林学院学报, 1996, 11 (2): 147 ~ 151

6 刘润进, 高秋莲, 韩殿一. 梨树VA菌根结构形态观察. 莱阳农学院学报, 1989, 6 (3): 34 ~ 38

7 毛永民, 范培格, 贾立涛, 申连英, 周俊义. 枣树VA菌根侵染率的田间调查. 河北农业大学学报, 1999, 22 (4): 55 ~ 57

8 Guo WW, Cheng YJ, Deng XX. Regeneration and molecular characterization of intergeneric somatic hybrids between citrus reticulata and poncirus trifoliate. Plant Cell Rep., 2002, 20: 829 ~ 834

9 郭文武. 柑橘细胞电融合及其再生植株的遗传变异研究(博士学位论文). 武汉: 华中农业大学, 1998

10 Gerdemann JW, Nicolson TH. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving anddecating. Trans. Brith. Mycol. Soc., 1963, 46: 235 ~ 244

11 Phillips JM, Hayman DS. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Trans. Brith. Mycol. Soc., 1970, 55: 158 ~ 161

12 唐振尧, 何首林. VA菌根对柑橘吸收铁素效应研究初报. 园艺学报, 1990, 17 (4): 257 ~ 261

13 Gadkar V, David-Schwartz R, Kunik T, Kapulnik Y. Arbuscular mycorrhizal fungal colonization, factor involved in host recognition. Plant Physiology, 2001, 127 (4): 1493 ~ 1499

14 朱丽霞, 章家恩, 刘文高. 根系分泌物与根际微生物相互作用研究综述. 生态环境, 2003, 12 (1): 102 ~ 105

15 刘润进, 李晓林主编. 丛枝菌根及其应用. 北京: 科学

出版社, 2000, 160 ~ 161

16 刘润进. 果树菌根. 见: 彭永宏, 王锋主编. 现代果树科学的理论与技术. 广州: 广东科技出版社, 2002, 236 ~ 251

17 Menge JA 著(向治安译). 有利于柑橘栽培的菌根菌接种体的经济生产. 见: 中国农业科学院果树研究所主编. 果树译丛(二). 北京: 农业出版社, 1981, 87 ~ 90

18 万水林, 沈廷厚. 柑橘VA菌根真菌繁殖及接种技术的应用研究. 土壤学报, 1994, 31 (增刊): 95 ~ 99

EFFECT OF CITRUS ROOTSTOCKS AND ROOTSTOCKS/SCIONS ON DEVELOPMENT OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAS

WU Qiang-sheng [1]　XIA Ren-xue[1]　GUO Wen-wu [2]　ZHOU Kai-bing [1]　HU Li-ming [1]

(1 *College of Horticulture and Forestry, Huazhong Agricultural University , Wuhan* 430070*;*

2 *National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, Huazhong Agricultural University, Wuhan* 430070)

Abstract　An experiment was conducted to explore effects of combination of five different citrus rootstocks with five different scions on development of arbuscular mycorrhizas under pot culture and in the field in August 2003. The results show that colonization rate of arbuscular mycorrhizal ranged from 4.88% to 40.52%, and spore density from 347 spore/kg dry soils to 750 spore/kg dry soils. Development of Arbuscular mycorrhizas in different soil depths was investigated. The highest colonization rate and the highest spore density were found within the soil depth of 10~20cm. In Arbuscular mycorrhizal development, no significant difference was detected between Guoqing No.1/ Trifoliate and Guoqing No.4/Trifoliate and between Caca Caca/Robertson No. 36/Trifoliate and Newhall/Robertson No. 36/Trifoliate. They were significantly lower than Washington Sanguine/Robertson No. 36/Trifoliate. Arbuscular mycorrhizal development with the combination of Red Tangerine + Trifoliate was the highest among the rootstocks and was significantly higher than the other rootstocks. A positive significant correlativity ($p \leq 0.05$) existed between spore density and mycorrhizal colonization rate with citrus under pot culture. Moreover, a positive significant correlativity ($P \leq 0.01$) was also found between spore density and mycorrhizal infection rate with all the experimented citrus in the field and under pot culture as well.

Key words　Citrus, Rootstocks/scions, Rootstocks, Arbuscular mycorrhiza, Arbuscular mycorrhizal fungi