

The Drought Resistance in the Symbiosis
of Plant and Microbe in the Dry-hot Valley

干旱河谷

植物微生物共生系统的抗旱性

马焕成 伍建榕 曾小红 著



科学出版社

干旱河谷植物微生物共生系统的 抗旱性

The Drought Resistance in the Symbiosis of Plant and
Microbe in the Dry-hot Valley

马焕成 伍建榕 曾小红 著



西南林业大学
西南地区生物多样性保育国家林业局重点实验室

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书从微生物多样性和植物生理生化等方面分析了豆科植物与根瘤菌、植物与丛枝菌根、云南松与外生菌根、苏铁与放线菌四大类干旱河谷典型植物微生物共生系统的多样性和抗旱性。揭示了植物微生物共生系统提高宿主植物抗旱性的生理生化机制,对从植物微生物共生系统的角度理解干旱河谷植物的适应性具有较高的科学意义。研究成果为国家生态恢复工程中的树种和造林技术选择提供理论和技术支持。

本书为从事生态恢复、植物生理生态研究与应用的科研人员和学生提供参考。

图书在版编目(CIP)数据

干旱河谷植物微生物共生系统的抗旱性/马焕成,伍建榕,曾小红著.北京:科学出版社,2016.8

ISBN 978-7-03-049546-4

I. ①干… II. ①马… ②伍… ③曾… III. ①干旱区-河谷-植物-微生物-共生-研究 IV. ①Q948.12

中国版本图书馆CIP数据核字(2016)第190297号

责任编辑:张会格 朱 瑾/责任校对:郑金红

责任印制:张 伟/封面设计:刘新新

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京京华虎彩印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016年8月第一版 开本:787×1092 1/16

2016年8月第一次印刷 印张:26 5/8

字数:610 000

定价:168.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

资 助 项 目

国家自然科学基金项目（编号 31260175，31560207，31360198，30760199）

云南省高校干旱河谷植被恢复科技创新团队

国家公益性行业（林业）研究专项（编号 201104034）

云南省“云岭教学名师”培养项目

云南省教育厅科学研究基金产业化培育项目 V2016

著者名单

主 编 马焕成 伍建榕 曾小红

著 者 (按姓氏拼音排序)

曹 妍	西南林业大学
丁 娜	西南林业大学
冯泉清	西南林业大学
李 丽	西南林业大学
马焕成	西南林业大学
沙桦星	西南林业大学
苏红飞	西南林业大学
伍建榕	西南林业大学
杨建军	西南林业大学
曾小红	中国热带农业科学院科技信息研究所
赵高卷	西南林业大学

前 言

横断山脉是喜马拉雅造山运动后随青藏高原抬升和多次地壳运动形成的。“横断山脉”的命名人，多数学者认为是清末（1878年）江西贡生黄懋材。他当时受四川总督派遣从四川经云南到印度考察“黑水”源流，在途经澜沧江、怒江流域时，感叹于路断山横的深水高山，造成东西间交通“横断”，故名横断山脉。

世界上很多河流的上游河谷均呈现不同程度的干旱特征，一般情况下河流切割越深，造成的干旱特征就越明显。但横断山脉特殊的南北走向和5000m以上的高山，不仅阻拦了自西南边进入的印度洋暖湿气流，也部分拒绝了自东部太平洋带来的水分，造成河谷内降水剧减，使该地区的干旱河谷得以大面积发育。20世纪80年代中国科学院在青藏高原横断山脉开展了多次综合科学考察，确定分布在横断山脉的金沙江、怒江、澜沧江、元江等干旱河谷总长为4105km，总面积为11230km²；并根据温度和干燥度的不同将横断山脉的干旱河谷分为干热、干暖和干温等3种类型。但多数情况下人们将以上3种类型俗称为干热河谷。

横断山脉地区受高空西风环流、印度洋和太平洋季风环流的影响，气候特点是冬干夏雨，干湿季非常明显，一般5月中旬至10月中旬为湿季，降水量占全年的85%以上，且主要集中于6、7、8三个月。而3~5月为全年最干燥和炎热的时间，此时常伴有强劲的山谷风，热浪和强风使植物承受极端严重的水分胁迫，这也是多数植物难以存活的主要原因。

干旱河谷的气候变化是在全球气候变化模式下受局部地貌影响的结果。第四纪以来的冰期和间冰期大幅度的气候变化对木棉等树种的分布和基因多样性造成明显的影响，使得哀牢山以东地区的木棉基因多样性急剧降低。近千年来的中世纪暖期（900~1300年）及小冰期（1550~1850年）对横断山脉地区的影响有多大还不得而知。现有气象观察表明，近50年来横断山区气温呈现统计意义上的变热变干趋势。干旱河谷平均气温每10年约升高0.11℃，年平均降水量每10年约减少1.48mm。这种趋势需要引起相关科研机构 and 政府的足够重视。

干旱河谷植被与相邻地区的植被类型相差甚远，但与干旱的北非和地中海地区植被有一定的相似度。金振洲教授和欧晓昆教授将元江、怒江、金沙江和澜沧江干热河谷的植被类型定义为“河谷型萨王纳植被”（Savanna of valley type），认为它与北非的萨王纳植被相似；而将金沙江和澜沧江干暖河谷的植被类型定义为“河谷型马基植被”（Maquis of valley type），认为它与地中海马基植被相似。在生态修复工程中使用的植物很多是从干旱区引入的耐旱植物，如桉树、木豆、新银合欢和相思类树种，这些速生的先锋树种的栽培在一定程度上改善了当地的生态环境。但从长期植被演替的角度看，也存在顶级群落缺乏等隐患。根据作者的研究和观察，乡土植物最大的特点是与微生物群落通过漫长的协同进化能形成稳定的共生关系，所以能在变化的气候环境中自然演替，保持稳定

的生态系统。而外来树种由于引入的时间短,与当地自然环境协同进化尚未形成,遇到阶段气候就会出现生态灾难。这干旱河谷的生态恢复过程影响极大。

作者通过 20 多年对干旱河谷植被恢复的研究,分析了豆科植物与根瘤菌、植物与丛枝菌根、云南松与外生菌根、苏铁与放线菌四大类共生系统的多样性和抗旱性,发现植物微生物共生系统的形成对干旱河谷宿主植物抗旱性和稳定性关系重大。一般认为外生菌根与植物形成的共生系统,通过外生菌根扩大了共生系统的吸水面积,可以提高植物的抗旱性。松树通过接种外生菌根提高苗木的保存率和幼林的生长率的例子不胜枚举。但近年来人们发现其他类型的植物与微生物形成的共生系统也能提高宿主的抗旱性。接种抗旱性强的根瘤菌可以提高豆科植物的抗旱性,接种丛枝菌根真菌可以提高西北干旱植物的抗旱和抗盐能力。这些共生系统提高宿主抗旱性的原理与扩大吸水面积没有关系,可能是由于微生物侵入过程中植物出现防御反应,产生的生理和代谢机制的变化提高了宿主植物的抗旱性。我们的研究发现豆科植物根瘤形成过程中脱落酸含量显著升高,而脱落酸的升高能启动植物的多个抗旱机制。苏铁具有很高的抗旱性,攀枝花苏铁在干热河谷地区恶劣条件下天然更新良好,而在有些地段因为植被改善出现部分遮阴后,攀枝花苏铁反而会出现天然更新受阻的情况。苏铁这种超强的抗逆性可能与其根部与放线菌和蓝细菌同时形成两套共生系统有关。

植物和微生物共生系统是一个复杂的研究方向,能够开展系统研究主要得益于国家自然科学基金和其他项目的长期支持。本研究的主要资助项目为“干热河谷豆科树种结瘤及其与耐旱性的关系研究”(编号 30760199)、“干热河谷丛枝菌根对木棉水分关系的影响”(编号 31260175)、“云南热区不同基因型木棉的抗旱性比较研究”(编号 31560207)、“地生兰-菌根-松三联共生关系研究”(编号 31360198)等国家自然科学基金项目,以及云南省高校干旱河谷植被恢复科技创新团队建设经费和国家公益性行业(林业)研究专项“干热河谷木棉纤维人工林培育关键技术研究”(编号 201104034)、云南省教育厅科学研究基金产业化培育项目、V2016 云南省“云岭教学名师”培养项目。研究过程中曾小红、丁娜、沙桦星、赵高卷、杨建军、李丽、冯泉清、苏红飞、曹妍等研究生开展了菌种分离纯化和鉴定、人工共生系统建立和植物抗旱性等方面的工作。

由于共生系统的复杂性,研究遇到许多问题尚未解决,书中不足之处在所难免,恳请读者批评指正。

马焕成 伍建榕

于西南林业大学

2015 年 10 月 9 日

目 录

第一篇 根瘤菌与豆科植物共生系统

第 1 章 干热河谷豆科树种根瘤菌多样性	3
第 1 节 研究背景	3
1.1 豆科植物固氮研究概况	3
1.2 豆科树种结瘤研究状况	3
1.3 根瘤菌的特征	4
1.4 根瘤菌的抗旱性研究	5
1.5 根瘤菌的遗传多样性	7
第 2 节 干热河谷豆科树种结瘤规律的初步研究	10
2.1 引言	10
2.2 豆科树种结瘤调查	11
2.3 土壤的理化分析	14
2.4 土壤理化性质的分析结果	15
2.5 豆科树种结瘤调查结果	16
2.6 分析与讨论	17
第 3 节 豆科树种根瘤菌的分离、纯化及鉴定	18
3.1 引言	18
3.2 根瘤的采集	18
3.3 根瘤菌的分离、纯化	18
3.4 根瘤菌的鉴定	19
3.5 结果	20
第 4 节 干热河谷豆科树种根瘤菌对干热胁迫的抗性研究	21
4.1 引言	21
4.2 材料与方法	21
4.3 结果与分析	22
4.4 讨论与结论	25
第 5 节 应用 Rep-PCR 技术分析部分根瘤菌的遗传多样性	26
5.1 引言	26
5.2 材料与方法	29
5.3 结果与分析	33
5.4 讨论与结论	38
第 6 节 结论	39
第 2 章 豆科树种对接种根瘤菌的生理响应	41

第1节	研究背景	41
1.1	干热河谷干旱状况及造林概况	41
1.2	固氮豆科树种及豆科树种根瘤菌资源研究概况	42
1.3	接种根瘤菌对豆科植物生物量、抗逆性的影响	44
1.4	研究水分胁迫对豆科植物结瘤规律的影响	45
第2节	水分胁迫下接种根瘤菌对两种豆科植物生物量的影响	46
2.1	材料与方法	46
2.2	结果与分析	47
2.3	讨论	51
2.4	结论	52
第3节	两种豆科植物在水分胁迫下接种根瘤菌后的生化响应	53
3.1	材料与方法	53
3.2	结果与分析	54
3.3	讨论	56
3.4	结论	57
第4节	水分胁迫下接种根瘤菌对全氮含量的影响	57
4.1	材料与方法	58
4.2	结果与分析	58
4.3	讨论	62
4.4	结论	63
第5节	水分胁迫下接种根瘤菌对两种豆科植物光合作用的影响	63
5.1	材料与方法	63
5.2	结果与分析	64
5.3	讨论	66
5.4	结论	67
第6节	水分胁迫对两种豆科植物结瘤量的影响	68
6.1	材料与方法	68
6.2	结果与分析	68
6.3	讨论	70
6.4	结论	70
第7节	结论	71
第3章	干热河谷台湾相思根瘤菌的多样性及耐旱性研究	73
第1节	引言	73
第2节	根瘤菌的分离、纯化及保存	74
2.1	材料与方法	74
2.2	结果与分析	76
第3节	根瘤菌与台湾相思共生结瘤形态及显微结构观察	78
3.1	材料与方法	78

3.2	结果与分析	80
3.3	结论与讨论	81
第4节	根瘤菌的系统发育研究	83
4.1	材料与方法	83
4.2	结果与分析	86
4.3	结论与讨论	94
第5节	根瘤菌的耐旱性研究	96
5.1	材料与方法	96
5.2	结果与分析	97
5.3	结论与讨论	108
第6节	根瘤菌的耐高温试验	110
6.1	材料与方法	110
6.2	结果与分析	110
6.3	结论与讨论	113
第7节	结论与讨论	113
7.1	结论	113
7.2	讨论	115
第二篇 丛枝菌根与树木共生系统		
第4章	几种典型生态系统的丛枝菌根真菌	119
第1节	丛枝菌根概述	119
第2节	干热河谷地区木棉的丛枝菌根真菌的多样性	124
2.1	研究背景及意义	124
2.2	材料与方法	125
2.3	结果与分析	129
2.4	讨论与结论	133
第3节	干旱胁迫下接种 AMF 对木棉实生苗的影响	133
3.1	材料与方法	133
3.2	结果与分析	134
3.3	讨论与结论	136
第4节	高黎贡山丛枝菌根真菌多样性研究	137
4.1	研究目的及意义	137
4.2	材料与方法	138
4.3	结果与分析	139
4.4	讨论与结论	143
第5节	丛枝菌根真菌对盈江县西南桦干腐病的抗性调查研究	144
5.1	研究目的及意义	144
5.2	材料与方法	145
5.3	结果与分析	147

5.4 讨论与结论	150
第6节 结论	151
第5章 高黎贡山北段土壤微生物群落的垂直分布规律	152
第1节 引言	152
1.1 高黎贡山的自然概况	152
1.2 高黎贡山植被和微生物相关研究	152
1.3 微生物的多样性	154
1.4 土壤微生物多样性的研究方法	154
1.5 研究的科学意义	159
第2节 研究方法	159
2.1 采样方法	159
2.2 分析方法	160
2.3 数据的处理	165
第3节 结果与分析	165
3.1 不同海拔植被带土壤理化性质的变化	165
3.2 土壤微生物多样性分析	166
第4节 结论	171
4.1 不同海拔不同植被带土壤的理化性质	171
4.2 根系分泌物是微生物利用的主要碳源	171
4.3 土壤微生物群落多样性分布符合“中部膨胀”规律	171
第6章 木棉不同种源对干旱胁迫的生理响应	173
第1节 引言	173
1.1 研究背景	173
1.2 研究的科学意义	178
第2节 不同种源根区土壤营养及其根、叶解剖结构	179
2.1 材料与方法	179
2.2 结果与分析	181
2.3 讨论	187
第3节 干旱对木棉不同种源种子萌发的影响	189
3.1 材料与方法	189
3.2 结果与分析	190
3.3 讨论	194
第4节 干旱胁迫下木棉不同种源的水分生理特征	195
4.1 材料与方法	195
4.2 结果与分析	197
4.3 讨论	203
第5节 干旱胁迫下木棉不同种源生物量及根系差异	205
5.1 材料与方法	205

5.2	结果与分析	206
5.3	讨论	212
第 6 节	干旱胁迫下木棉不同种源光合生理特性	214
6.1	材料与方法	214
6.2	结果与分析	215
6.3	讨论	220
第 7 节	干旱胁迫下木棉不同种源渗透调节物质代谢与酶活响应	221
7.1	材料与方法	222
7.2	结果与分析	223
7.3	讨论	227
第 8 节	木棉节水抗旱指标的筛选与综合评价	228
8.1	数据处理方法	228
8.2	结果与分析	229
第 9 节	结论	231
第 7 章	丛枝菌根对两种木棉科植物抗旱性和根区营养的影响	233
第 1 节	引言	233
1.1	概述	233
1.2	干热河谷丛枝菌类群研究	234
1.3	树木对干旱胁迫的响应和抗旱机制	234
1.4	干旱胁迫对树木养分供应的影响	236
1.5	丛枝菌根与树种抗旱性的关系	237
1.6	丛枝菌根与根区养分供应的关系	237
1.7	研究的科学意义	238
第 2 节	材料和方法	238
2.1	试验材料	238
2.2	丛枝菌分离鉴定与扩繁	239
2.3	苗木培育	239
2.4	干旱处理	240
2.5	样品采集	241
2.6	测定项目及方法	241
2.7	数据分析	242
第 3 节	结果与分析	242
3.1	接种 AM 菌与干旱胁迫对吉贝和木棉生长的影响	242
3.2	接种 AM 菌与干旱胁迫对吉贝和木棉叶片光合作用的影响	251
3.3	接种 AM 菌与干旱胁迫对吉贝和木棉叶片叶绿素荧光参数的影响	254
3.4	接种丛枝菌与干旱胁迫对吉贝和木棉生理生化的影响	265
3.5	接种 AM 菌与干旱胁迫吉贝和木棉根区养分和叶片营养变化	268
3.6	接种丛枝菌与干旱胁迫对吉贝和木棉菌根化的影响	279

第4节 结论与讨论	279
4.1 接种 AM 菌与干旱胁迫吉贝和木棉生长情况响应	279
4.2 接种 AM 菌与干旱胁迫吉贝和木棉光合和荧光参数的响应	281
4.3 接种 AM 菌与干旱胁迫吉贝和木棉 MDA、游离脯氨酸和游离氨基酸的响应	282
4.4 接种 AM 菌与干旱胁迫吉贝和木棉土壤及叶片养分影响的响应	282
4.5 接种 AM 菌与干旱胁迫吉贝和木棉菌根化的响应	288
第三篇 菌根菌与松的共生系统	
第8章 云南松外生菌根菌与抗旱性的关系	293
第1节 引言	293
1.1 云南松的适应性	293
1.2 干旱对树木生长的影响	295
1.3 菌根与树木抗旱性的关系	296
1.4 抗旱造林技术	298
1.5 植物的旱生结构	298
第2节 材料和方法	299
2.1 云南松菌根菌的分离培养研究	299
2.2 菌落测量方法	300
2.3 5个云南松种苗的生长比较	300
2.4 云南松对干旱胁迫下的生理响应	301
第3节 结果与分析	302
3.1 云南松菌根菌的分离培养研究	302
3.2 5个云南松种苗的生长比较	307
3.3 云南松在干旱胁迫下的生理反应	314
3.4 讨论	318
第4节 结论	318
第四篇 放线菌与苏铁共生系统	
第9章 苏铁珊瑚状解剖结构根及其内生放线菌多样性研究	323
第1节 引言	323
1.1 苏铁形态解剖学研究	323
1.2 苏铁珊瑚状根的形成及结构研究	324
1.3 苏铁珊瑚状根与蓝细菌的共生关系研究	324
1.4 苏铁与内生放线菌	325
1.5 苏铁快速繁育研究现状和前景	328
第2节 苏铁珊瑚状根结构研究	329
2.1 材料与方法	329
2.2 结果与分析	330

2.3 讨论	333
第3节 利用 16S rRNA 基因克隆文库构建研究苏铁珊瑚状根内生放线菌的多样性	333
3.1 材料与方法	333
3.2 结果与分析	336
3.3 讨论	340
第4节 苏铁珊瑚状根内生放线菌纯培养分离的研究	341
4.1 材料与方法	341
4.2 结果与分析	343
4.3 讨论	350
第5节 苏铁珊瑚状根内生放线菌形态特征和生理生化特征的初步研究	353
5.1 材料与方法	353
5.2 结果与分析	357
5.3 讨论	360
第6节 苏铁无菌苗培育初探	361
6.1 实验材料与方法	361
6.2 结果与分析	362
6.3 讨论	363
第7节 内生放线菌与苏铁无菌苗共生体系建立	364
7.1 实验材料与方法	364
7.2 结果与分析	365
7.3 讨论	366
第8节 结论	367
参考文献	369

第一篇 根瘤菌与豆科植物共生系统

第1章 干热河谷豆科树种根瘤菌多样性

第1节 研究背景

1.1 豆科植物固氮研究概况

氮素是构成所有生物机体的重要元素之一。地球生态系统中最重要有机物生产者——植物，其生长发育所需要的营养元素第一位是氮素。氮主要存在于大气中，但在自然界所有生物中，唯一能够打开大气氮素营养库的大门，使分子态氮(N_2)作为营养成分进入生物有机体的只有微生物中的部分原核类群——固氮微生物，其直接或通过与其他生物共生的方式将分子态氮转化成植物可利用的氮素(程东升, 1995)。

生物固氮中豆科植物与根瘤菌的共生固氮：根据张宪武、Burris 和 Hardy 等估计，每年固定的氮约 4000 万 t，接近全世界工业生产的氮肥(4500 万 t)，这是不需要设备、投资和劳力的自然的恩赐(王书锦, 1994)。

豆科植物的共生固氮作用是根瘤菌在豆科植物根瘤里建立的一种互相有利，共存共荣的关系。豆科植物共生固氮每年每公顷 75~150kg，在适宜的条件下可达到每公顷 300kg。根瘤菌在根瘤里固定的氮可满足豆科植物 1/3~1/2 的氮素需要(窦新田, 1989)。

目前，欧美、日本、印度均大量生产各种根瘤菌剂广泛用于农业生产，美国自1929年就开始发展根瘤菌剂工业。澳大利亚以接种根瘤菌豆科牧草作为氮源，与禾本科牧草混播，改良了草原，草原载畜量由接种前的每公顷1头提高到每公顷5头(窦新田, 1989)。而我国在豆科作物和豆科绿肥上应用根瘤菌接种的措施也已经有30多年的历史了，主要是将筛选到的优良菌种在大豆、花生和三叶草等豆科植物上接种，使其获得高产(樊庆笙等, 1986)。在实现了将根瘤菌接种到花生上使花生荚果产量在一定程度上有所提高的基础上，孙彦告(1992)又研究了根瘤菌固氮与施氮肥的关系，进而提出了氮减半、磷全量、钾加倍的花生施肥方案，为花生创高产提供了科学的施肥依据。

1.2 豆科树种结瘤研究状况

多年来根瘤菌的研究大多偏重于豆科作物绿肥与牧草和根瘤菌的共生固氮体系，对木本豆科树种的研究相对较少。统计表明，豆科植物有 700 多属近 20 000 种，可分为 3 个亚科(中国植物志, 1984)，已进行过结瘤观察的有 3000 余种，其中结瘤的约 92%，含羞草亚科结瘤的占调查种数的 90%，蝶形花亚科为 98%，苏木亚科为 28%。可以看出，结瘤的树种大部分属于含羞草亚科和蝶形花亚科；苏木亚科中的绝大部分树种是不结瘤的(Basak and Goysl, 1980; Allen O N and Allen E K, 1981; 韩素芬和周湘泉, 1990)。苏木亚科的根系坚实，根毛稀少且细胞壁加厚，使根瘤菌难以入侵；此外还分泌许多单宁等抗菌物质使根瘤菌的生长受到抑制，使得苏木亚科内的许多木本豆科植物不能结瘤