

# 接种外生菌根真菌对铝胁迫下马尾松幼苗细根抗氧化生理的影响

文思伽, 辜夕容\*, 李昂, 吕亚茹, 徐诗蕊, 周晓宇

西南大学 资源环境学院, 重庆

文思伽, 辜夕容, 李昂, 吕亚茹, 徐诗蕊, 周晓宇. 接种外生菌根真菌对铝胁迫下马尾松幼苗细根抗氧化生理的影响[J]. 微生物学报, 2026, 66(1): 377-393.

WEN Sijia, GU Xirong, LI Ang, LYU Yaru, XU Shirui, ZHOU Xiaoyu. Ectomycorrhizal fungal inoculation alleviates aluminum stress in *Pinus massoniana* seedlings by modulating fine root antioxidant physiology[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(1): 377-393.

**摘要:** 【目的】探索外生菌根真菌(ectomycorrhizal fungus, ECMF)侵染能否以及如何通过调控细根抗氧化生理来抵御铝毒, 为将 ECMF 应用于酸铝地区的生态修复提供理论依据。【方法】选用松乳菇(*Lactarius deliciosus*) 2 和彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius*) 715 接种马尾松(*Pinus massoniana*) 幼苗, 以非菌根苗为对照, 经 0.0 mmol/L 和 1.0 mmol/L  $Al^{3+}$  连续处理 6 个月后取马尾松幼苗进行检测分析, 内容包括其生物量、细根形态参数、质膜透性、活性氧水平、抗氧化酶活性与渗透调节物质含量。【结果】铝胁迫下接种 *L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 可显著促进马尾松幼苗生长和细根发育, 幼苗生物量增加 1.26–1.33 倍, 细根总根长、根表面积、根体积和根尖数增加 2.25–3.99 倍, 细根丙二醛(malondialdehyde, MDA)、过氧化氢(hydrogen peroxide,  $H_2O_2$ )、脯氨酸和可溶性蛋白含量则显著降低。此外, 接种 *L. deliciosus* 2 还可显著增强细根过氧化物酶(peroxidase, POD)与过氧化氢酶(catalase, CAT)活性, 且比接种 *P. tinctorius* 715 具有更高的细根表面积、根体积和更低的脯氨酸含量。【结论】接种 ECMF 有助于提高马尾松幼苗抗铝毒能力, 其核心驱动力在于促进细根形态发育, 而减少  $H_2O_2$  积累、防止细胞膜功能受损、降低渗透调节物质合成是其中的关键。*L. deliciosus* 2 促进细根生长发育的能力强于 *P. tinctorius* 715, 其 POD 与 CAT 活性增强以及脯氨酸合成量降低更有利于防止细根免受铝的原初毒害。

**关键词:** 外生菌根真菌; 铝毒; 渗透调节物质; 抗氧化酶; 马尾松

资助项目: 国家自然科学基金(32171753)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32171753).

\*Corresponding author. E-mail: gxr0956@163.com

Received: 2025-07-22; Accepted: 2025-09-16; Published online: 2025-09-30

## Ectomycorrhizal fungal inoculation alleviates aluminum stress in *Pinus massoniana* seedlings by modulating fine root antioxidant physiology

WEN Sijia, GU Xirong\*, LI Ang, LYU Yaru, XU Shirui, ZHOU Xiaoyu

College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing, China

**Abstract:** [Objective] Aluminum (Al) toxicity in acidic soils severely inhibits plant growth by inducing oxidative stress. Ectomycorrhizal fungus (ECMF) can enhance host plant Al tolerance, but the underlying physiological mechanisms, particularly in fine roots, are not fully understood. This study investigates how ECMF colonization mitigates Al toxicity by modulating the antioxidant physiology of plants, with an aim in applying ECMF for the ecological restoration of Al-contaminated acidic soils. [Methods] *Pinus massoniana* seedlings were inoculated with *Lactarius deliciosus* 2 or *Pisolithus tinctorius* 715, with non-ectomycorrhizal seedlings as the control. After a 6-month exposure to 0.0 mmol/L or 1.0 mmol/L Al<sup>3+</sup>, we assessed seedling biomass, fine root morphology, plasma membrane permeability, reactive oxygen species (ROS) levels, antioxidant enzyme activities, and osmoregulatory substance content. [Results] Under Al stress, inoculation with either *L. deliciosus* 2 or *P. tinctorius* 715 significantly promoted seedling growth and fine root development. The inoculated seedlings exhibited 1.26–1.33 folds greater biomass and 2.25–3.99 folds increases in the total root length, root surface area, root volume, and root tip number compared to the non-inoculated control. The ECMF inoculation also significantly reduced the accumulation of malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), proline, and soluble proteins in fine roots. Furthermore, inoculation with *L. deliciosus* 2 resulted in significantly higher root surface area and root volume, along with greater peroxidase (POD) and catalase (CAT) activities and a more pronounced reduction in proline content in fine roots, compared to inoculation with *P. tinctorius* 715. [Conclusion] Our findings demonstrate that ECMF inoculation alleviates Al stress in *P. massoniana* seedlings by promoting fine root development, bolstering the antioxidant system (notably through increased POD and CAT activities), reducing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation, preserving plasma membrane integrity, and decreasing the synthesis of osmoregulatory substances. The superior performance of *L. deliciosus* 2 highlights its potential for its application in the ecological restoration of Al-contaminated acidic soils.

**Keywords:** ectomycorrhizal fungi; aluminum toxicity; osmoregulatory substance; antioxidant enzyme; *Pinus massoniana*

铝毒是酸性土壤中植物生长的主要限制因子之一<sup>[1]</sup>。我国南方地区约 90% 的森林土壤呈酸性，其中普遍存在的铝毒常使森林生长受限<sup>[2]</sup>。随着全球气候变暖，酸沉降和氮沉降加

剧，土壤酸化日趋严重，活性铝溶出量增多<sup>[3]</sup>。当铝积累到一定程度后会更为严重地危害林木生长和森林可持续发展<sup>[2]</sup>。铝毒通过抑制植物光合作用<sup>[4]</sup>、养分吸收<sup>[5-6]</sup>、干扰生理代谢<sup>[7]</sup>等影响

植物的生长和发育。植物遭受铝毒危害时其根系会通过分泌有机酸、酚酸等有机物质螯合  $Al^{3+}$ , 减少  $Al^{3+}$  与细胞壁内羧基的结合, 碱化植物根际 pH, 调控抗氧化系统清除活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 等途径增强耐铝性<sup>[8-9]</sup>。然而, 当土壤溶液中活性铝浓度超过一定阈值, 或植物受铝毒胁迫时间过长时植物的抗氧化系统可能失效, 导致细胞受损甚至植株死亡<sup>[10]</sup>。

外生菌根(ectomycorrhiza, ECM)是林木最重要的菌根类型, 是外生菌根真菌(ectomycorrhizal fungus, ECMF)与树木营养根(细根)的共生体。在这个共生体中两者相互依存且高度统一。作为土壤中极为重要的微生物, ECMF 在促进植物生长和养分吸收、提高宿主对不良环境的抵抗能力方面具有不可忽视的重要作用<sup>[11]</sup>。已有研究发现, ECM 共生是提高木本植物耐铝性的重要途径之一。ECMF 通过增加植物根系对养分的吸收利用范围与效率<sup>[5,12]</sup>, 分泌有机酸等有机物质降低  $Al^{3+}$  活性<sup>[13]</sup>, 形成菌套、哈蒂氏网等特定结构屏蔽  $Al^{3+}$  进入根系细胞<sup>[5,14]</sup>, 通过菌丝吸附和液泡区室化隔离降低侵入细胞内的  $Al^{3+}$  含量<sup>[14]</sup>等机制提高宿主植物耐铝性。同时, 不同 ECMF 在提高植物耐铝性的能力和机制上存在明显差异。例如, 王明霞等<sup>[15]</sup>对 4 种 ECMF 吸收、吸附  $Al^{3+}$  的情况进行研究后发现, ECMF 间的耐铝性差异明显; 铝胁迫下粘盖乳牛肝菌 (*Suillus bovinus*)、双色蜡蘑 (*Laccaria bicolor*) 分别通过上调有机酸及酚酸的分泌、活化无机磷库提升磷生物有效性等途径提高马尾松抗铝性<sup>[12,16]</sup>。此外, ECMF 的侵染还会提高根系抗氧化系统酶活性来促进植物生长, 促生效果相对较高的褐环乳牛肝菌 (*Suillus luteus*) 接种的油松 (*Pinus tabulaeformis*) 根系抗氧化酶活性显著高于促生效果相对较低的红汁乳菇 (*Lactarius hatsudake*)<sup>[17]</sup>。然而, 现有研究多聚焦于整株或根系(细根+粗根)水平, 对“ECM-细根-抗氧化系统-铝毒”这一链条的生理学机制仍缺乏系统报

道。ECMF 是否会通过提高细根抗氧化酶活性来抵御铝毒害, 目前尚少有数据支持。细根作为铝毒害的原初部位, 其抗氧化生理功能是否正常直接影响植物抗铝性。因此, 厘清 ECMF 侵染能否以及如何通过调控宿主细根抗氧化生理来抵制铝毒, 对于进一步补充完善 ECM 根系功能分区理论, 深化 ECMF 提高植物抗铝性机制具有积极意义。马尾松 (*Pinus massoniana*) 是我国南方造林先锋树种, 提高其耐铝性直接关系到土壤退化区植被恢复和碳汇林建设<sup>[14]</sup>。为此, 在发现酸性铝胁迫下接种松乳菇 (*Lactarius deliciosus*) 和彩色豆马勃 (*Pisolithus tinctorius*) 可通过改善马尾松细根形态结构和养分吸收能力来提高植物抗铝性的基础上<sup>[18-19]</sup>, 本研究以细根为研究对象, 从细根抗氧化防御系统角度探讨 ECMF 提高植物抗铝性的机理, 以为促进菌根技术在酸性土壤生态修复上的应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试 ECMF

供试菌种为前期试验中筛选出的抗铝性能和促生效果均优良且存在差异的 2 种 ECMF, 即 *L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715<sup>[20]</sup>。其中, *L. deliciosus* 2 对马尾松幼苗的促生效果优于 *P. tinctorius* 715<sup>[18]</sup>。供试菌种在 Pachlewski 固体培养基(pH 5.5)上活化培养 15 d 后用打孔器取直径 5 mm 的菌块 5 块, 接种于装有 100 mL Pachlewski 液体培养基的组培瓶内, 置于 (25±1) °C 的人工气候箱中暗培养 15 d 备用。

### 1.2 供试树种

供试树种为马尾松。试验所用种子由重庆市林木种苗站收集并提供。采用水选法去除杂质、瘪粒和空粒, 选取饱满、大小均匀一致的种子, 依次用 2% 过氧化氢消毒 20 min、用纯水反复冲洗, 再用 37 °C 温水浸种 24 h 后, 均匀播撒于经 75% 乙醇消毒处理后的干燥珍珠岩中,

上覆一薄层珍珠岩, 用去离子水润湿后置于灭菌后的人工气候箱中催芽, 气候箱中温度为 $(25\pm 1)$  °C, 空气相对湿度为 90%, 保持黑暗环境。待 90% 以上种子露白后播种。

### 1.3 供试土壤

供试土壤为采自重庆市北碚区澄江镇赴草堂附近马尾松林下( $29.88^{\circ}\text{N}$ ,  $106.31^{\circ}\text{E}$ , 海拔 623 m) 0–20 cm 土层的冷砂黄壤。去除杂物后, 喷洒 2% 的甲醛水溶液消毒杀菌, 均匀拌土后覆膜 7 d, 再揭膜翻晒 7 d 后装盆(长 12 cm×宽 8.5 cm×高 10.5 cm)备用, 每盆装土 2.5 kg。经检测该土壤有机质含量为 37.80 g/kg, pH 值为 4.32, 全氮 0.37 g/kg、全磷 0.39 g/kg、全钾 7.03 g/kg、全铝 31.81 g/kg、碱解氮 50.52 mg/kg、有效磷 2.07 mg/kg、速效钾 46.22 mg/kg。

### 1.4 苗木培育与铝处理

将液体培养的菌丝体按菌种分别过滤, 用去离子水去除表面附着的培养液后放入打浆机, 按每 3 瓶菌丝体注入无菌水 500 mL, 低速打散制成液体菌剂。将 *L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 液体菌剂按 1:1 混合后, 经 121 °C 灭菌 30 min 得到灭活菌剂。将催芽后的马尾松种子分别与液体菌剂拌匀, 每盆播种 20 粒种子、施加 50 mL 菌剂, 以获得菌根苗(*L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 菌根苗)。对照组则采用灭活菌剂进行拌种以获得非菌根苗(Non-ECM)。将以上盆栽放置在用紫外线灭菌的培养室中, 培养条件为: 温度 $(25\pm 1)$  °C, 光周期 12 h/12 h, 光照强度 5 560 lx。待出苗 3 个月后进行间苗, 每盆保留 6 株马尾松幼苗。培养期间每周按 100 mL/盆浇去离子水以保持土壤湿润。培养 6 个月后, 随机抽取部分幼苗镜检其菌根侵染率, 用番红固绿染色后观察根系 ECM 的结构, 并根据染色根段占比计算侵染率<sup>[18]</sup>。结果显示, 未侵染菌根的幼苗根系 ECMF 侵染率为 0, *L. deliciosus* 2 菌根苗侵染率为 94.3%, *P. tinctorius* 715 菌根苗侵染率为 95.3%。

幼苗培养 6 个月后进行铝处理。马尾松幼苗在  $\text{Al}^{3+}$  浓度高于 0.15 mmol/L 时即受到生长抑制, 在  $\text{Al}^{3+}$  浓度为 1.0 mmol/L 时受到显著抑制, 表现出明显的铝毒害效应<sup>[21]</sup>。因此, 每周每盆分别施入 pH 3.8 的 100 mL 不外源添加  $\text{Al}^{3+}$  的去离子水、1.0 mmol/L 的  $\text{Al}^{3+}$  [ $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ ] 溶液, 连续处理 5 个月, 继续培养 1 个月后取苗。将以上各处理的盆栽幼苗随机排列, 每盆检测 6 株幼苗, 每 3 盆为一个重复, 每处理各 3 个重复, 共计 54 盆马尾松幼苗。

### 1.5 测定项目与方法

马尾松幼苗共培养 12 个月后, 将幼苗连土一起完整取出, 轻轻抖落根际土壤, 用纯净水清洗干净表面泥土后用滤纸吸干水分, 在电子天平上称其鲜重, 经 105 °C 杀青 30 min 后, 80 °C 烘干 24 h 至恒重。取马尾松幼苗根系, 用根系扫描仪(Epson 公司)扫描后用 WinRHIZO 根系分析软件(WinRHIZO 2012b)分析总根长、根表面积、根体积、平均根直径、根尖数等细根形态参数。

取马尾松幼苗新鲜根系, 依据根序分级标准, 选取直径 $\leq 2$  mm 的侧根为待测细根, 经去离子水快速清洗表面附着物, 液氮速冻后, 置于 $-80$  °C超低温冰箱保存备用。分别采用硫代巴比妥酸法、对氨基苯磺酸法、硫酸钛法、酸性茚三酮法、蒽酮法、牛血清蛋白法、氮蓝四唑还原法、愈创木酚比色法、硫酸终止法检测其中丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧阴离子(superoxide anion,  $\text{O}_2^-$ )、过氧化氢(hydrogen peroxide,  $\text{H}_2\text{O}_2$ )、脯氨酸(proline, Pro)、可溶性糖(soluble sugar, SS)、可溶性蛋白(soluble protein, SP)含量及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶(peroxidase, POD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)活性<sup>[22-23]</sup>。

### 1.6 数据处理与分析

试验所得数据用 IBM Statistics SPSS 26.0 进

行数据分析, 采用双因素方差分析检验铝水平与菌根化处理的主效应及交互作用后, 分别采用 Duncan 法及  $t$  检验进行多重比较, 图和表中所有数据均为平均值 $\pm$ 标准差( $n=3$ ), 显著水平为  $P<0.05$ 。用 GraphPad Prism 10.1.2 绘图。为探究接种 ECMF 对铝胁迫下马尾松幼苗细根抗氧化生理及最终生长表现的调控路径与作用机制, 采用 R 4.5.1 进行偏最小二乘路径模型(partial least squares path modeling, PLS-PM)分析。为克服单一生长指标评价的局限性, 全面客观反映马尾松幼苗的整体生长状况, 采用隶属函数法对马尾松幼苗生长状况进行综合评价, 由公式(1)和(2)计算<sup>[24]</sup>。

$$U(x) = \frac{(X - X_{\min})}{(X_{\max} - X_{\min})} \quad (1)$$

$$U(x) = 1 - \frac{(X - X_{\min})}{(X_{\max} - X_{\min})} \quad (2)$$

式中:  $X$  为指标的实际测定值,  $X_{\min}$  为指标在所有样本中的最小值,  $X_{\max}$  为指标在所有样本中的最大值。若所测指标为正向指标(生物量、总根长、根表面积、根体积、平均根直径、根尖

数、POD 活性), 则采用公式(1)计算; 若为负向指标(MDA 含量、 $O_2^-$ 含量、 $H_2O_2$ 含量、脯氨酸含量、可溶性糖含量、可溶性蛋白含量、SOD 活性、CAT 活性)则采用公式(2)计算。

## 2 结果与分析

### 2.1 ECMF 对铝胁迫下马尾松幼苗生物量和细根形态参数的影响

接种 ECMF 对铝胁迫下马尾松幼苗生长状况的影响如图 1 所示。在无铝条件下, 菌根苗的长势明显优于非菌根苗, 其中接种 *L. deliciosus* 2 的菌根苗长势最佳。在铝胁迫条件下, 非菌根苗和菌根苗的生长均受到抑制, 但菌根苗的长势仍优于非菌根苗。

铝胁迫显著抑制了马尾松幼苗的生长, 而接种 ECMF 缓解了铝对马尾松幼苗生长的抑制作用, 铝胁迫与 ECMF 侵染对马尾松幼苗生长的交互作用显著( $P<0.001$ ) (图 2A)。与无铝处理(0.0 mmol/L  $Al^{3+}$ )相比, 铝处理(1.0 mmol/L  $Al^{3+}$ )分别使非菌根苗(Non-ECM)、*L. deliciosus* 2 与

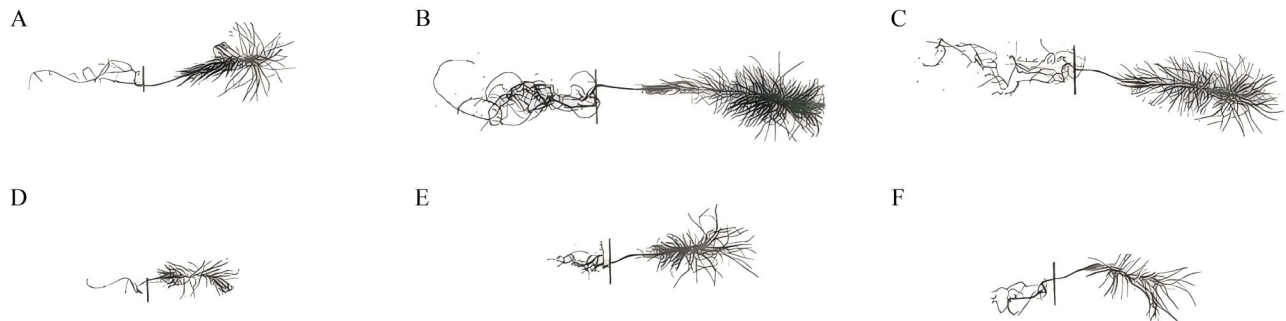


图1 接种ECMF对铝胁迫下马尾松幼苗生长的影响。A: 0.0 mmol/L  $Al^{3+}$ 处理下的非菌根苗; B: 0.0 mmol/L  $Al^{3+}$ 处理下的*L. deliciosus* 2菌根苗; C: 0.0 mmol/L  $Al^{3+}$ 处理下的*P. tinctorius* 715菌根苗; D: 1.0 mmol/L  $Al^{3+}$ 处理下的非菌根苗; E: 1.0 mmol/L  $Al^{3+}$ 处理下的*L. deliciosus* 2菌根苗; F: 1.0 mmol/L  $Al^{3+}$ 处理下的*P. tinctorius* 715菌根苗。

Figure 1 Effects of ECMF inoculation on the growth of *Pinus massoniana* seedlings under Al stress. A: Non-ectomycorrhizal fungus seedlings under 0.0 mmol/L  $Al^{3+}$  treatment; B: *L. deliciosus* 2 seedlings under 0.0 mmol/L  $Al^{3+}$  treatment; C: *P. tinctorius* 715 seedlings under 0.0 mmol/L  $Al^{3+}$  treatment; D: Non-ectomycorrhizal fungus seedlings under 1.0 mmol/L  $Al^{3+}$  treatment; E: *L. deliciosus* 2 seedlings under 1.0 mmol/L  $Al^{3+}$  treatment; F: *P. tinctorius* 715 seedlings under 1.0 mmol/L  $Al^{3+}$  treatment.

*P. tinctorius* 715 菌根苗生物量显著降低 70.20%、68.76% 和 56.21% ( $P<0.05$ )。与非菌根苗相比, 无论是否存在铝处理, 接种 ECMF 均显著提高了马尾松幼苗的生物量, 在铝处理下接种 *L. deliciosus* 2 与 *P. tinctorius* 715 分别使马尾松幼苗的生物量显著增加 1.33 倍和 1.26 倍( $P<0.05$ )。

铝胁迫和接种 ECMF 均显著影响了马尾松的总根长、根表面积、根体积、平均根直径和根尖数等细根形态参数, 且二者间的交互作用显著( $P<0.001$ ) (图 2B–2F)。与无铝处理相比, 铝处理显著降低了马尾松非菌根苗、*L. deliciosus* 2 与 *P. tinctorius* 715 菌根苗的总根

长、根表面积、根体积、平均根直径和根尖数。无论是否存在铝处理, *L. deliciosus* 2 与 *P. tinctorius* 715 菌根苗的总根长、根表面积、根体积、根尖数均显著高于非菌根苗。与非菌根苗相比, 在铝处理下 *L. deliciosus* 2 菌根苗的总根长、根表面积、根体积和根尖数分别显著增加 2.56 倍、3.40 倍、3.99 倍和 3.59 倍( $P<0.05$ ); *P. tinctorius* 715 菌根苗的总根长、根表面积、根体积和根尖数分别显著增加 2.93 倍、2.53 倍、2.25 倍和 3.69 倍( $P<0.05$ ); 且相较于 *P. tinctorius* 715 菌根苗, *L. deliciosus* 2 菌根苗的根表面积与根体积分别显著高出 24.68% 和 53.79% ( $P<0.05$ )。

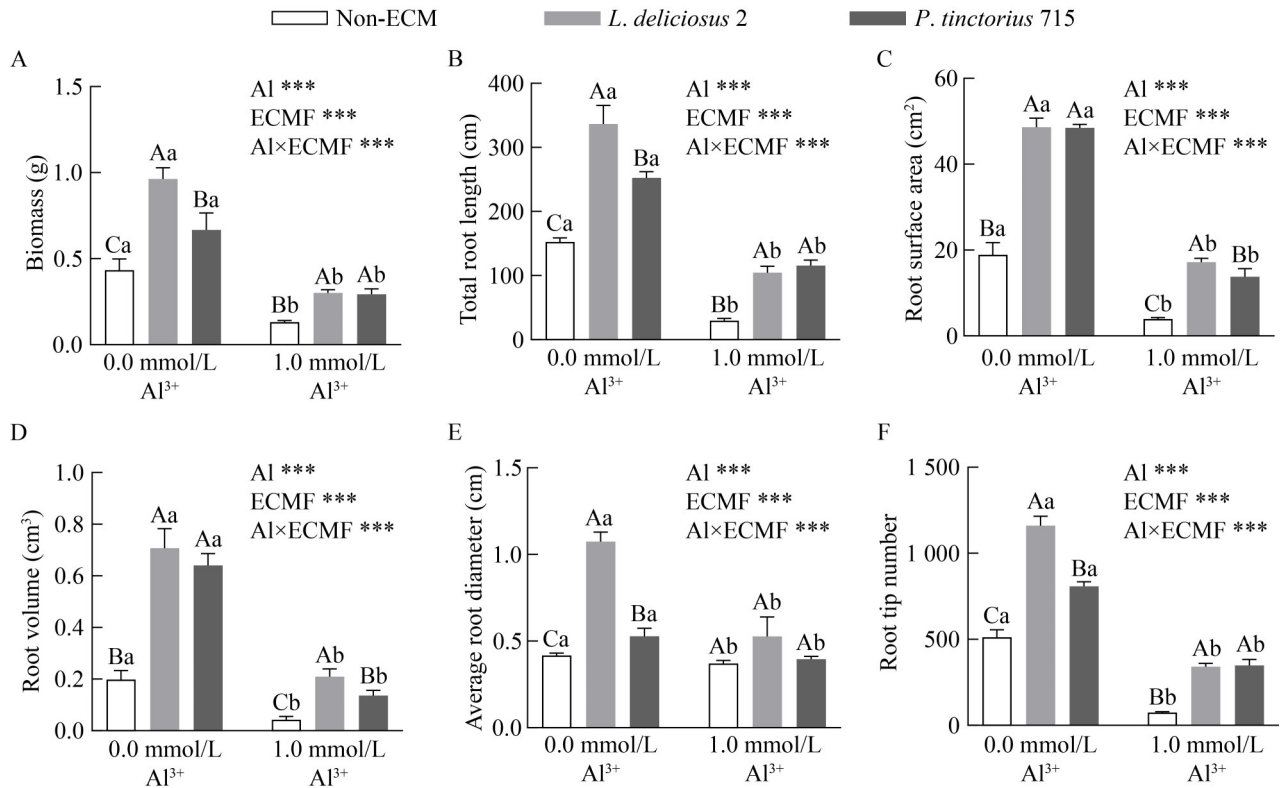


图2 接种ECMF对铝胁迫下马尾松幼苗生物量和细根形态参数的影响。A: 生物量; B: 总根长; C: 根表面积; D: 根体积; E: 平均根直径; F: 根尖数。

Figure 2 Effects of ECMF inoculation on biomass and root morphological characteristics of *Pinus massoniana* seedlings under Al stress. A: Biomass; B: Total root length; C: Root surface area; D: Root volume; E: Average root diameter; F: Root tip number. Different uppercase or lowercase letters on the bar indicate significant differences among ectomycorrhizal seedlings under the same Al level or between Al levels under the same ectomycorrhizal treatment, respectively ( $P<0.05$ ). \*\*\* indicate  $P<0.001$ .

## 2.2 ECMF 对铝胁迫下马尾松细根质膜透性和 ROS 含量的影响

铝处理与 ECMF 侵染显著影响了马尾松细根的质膜透性, 且两者间的交互作用显著 ( $P<0.05$ )。与无铝处理相比, 铝处理显著增加了马尾松非菌根苗细根的 MDA 含量 79.19% ( $P<0.05$ ), 但对 *L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 2 种菌根苗细根的 MDA 含量均无显著影响 (图 3A)。与非菌根苗相比, 在无铝处理时 *L. deliciosus* 2 菌根苗细根的 MDA 含量显著降低 42.61% ( $P<0.05$ ), *P. tinctorius* 715 菌根的 MDA 含量无显著改变; 在铝处理下 *L. deliciosus* 2 与 *P. tinctorius* 715 菌根苗细根的 MDA 含量分别显著降低 33.41% 和 37.42% ( $P<0.05$ ), 且 2 种菌根苗间无显著差异。

铝处理与 ECMF 侵染显著影响了马尾松细根的  $O_2^-$  和  $H_2O_2$  含量, 2 种处理对  $O_2^-$  含量无显著的交互作用 ( $P>0.05$ ), 但对  $H_2O_2$  含量的交互作用显著 ( $P<0.01$ )。与无铝处理相比, 铝处理显著增加了马尾松幼苗细根中的  $O_2^-$  含量 ( $P<0.001$ ) (图 3B)。与非菌根苗相比, 菌根苗细根中的  $O_2^-$

含量均显著增加 ( $P<0.01$ )。与无铝处理相比, 铝处理显著增加了马尾松非菌根苗、*L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 菌根苗细根中的  $H_2O_2$  含量 (图 3C)。与非菌根苗相比, 在有无铝处理的情况下 *L. deliciosus* 2 与 *P. tinctorius* 715 菌根苗细根的  $H_2O_2$  含量均显著降低, 且在铝处理下  $H_2O_2$  含量显著下降 22.50%–22.86% ( $P<0.05$ ), 2 种菌根苗间细根的  $H_2O_2$  含量无显著差异。

## 2.3 ECMF 对铝胁迫下马尾松细根抗氧化酶活性的影响

马尾松幼苗细根的 SOD 活性受铝处理影响显著, 但受 ECMF 侵染的影响不显著, 且铝胁迫与 ECMF 侵染对细根 SOD 活性无显著交互作用 (图 4A)。与无铝处理相比, 铝处理仅使 *P. tinctorius* 715 菌根苗细根 SOD 活性显著增加 ( $P<0.01$ )。与非菌根苗相比, 接种 ECMF 对有无铝处理下马尾松细根的 SOD 活性均无显著影响。铝胁迫与 ECMF 接种均显著影响马尾松幼苗细根的 POD 及 CAT 活性, 且 2 种处理间存在显著交互作用 ( $P<0.001$ , 图 4B 和 4C)。与无铝处理相比, 铝处理显著升高非菌根苗细根的 POD

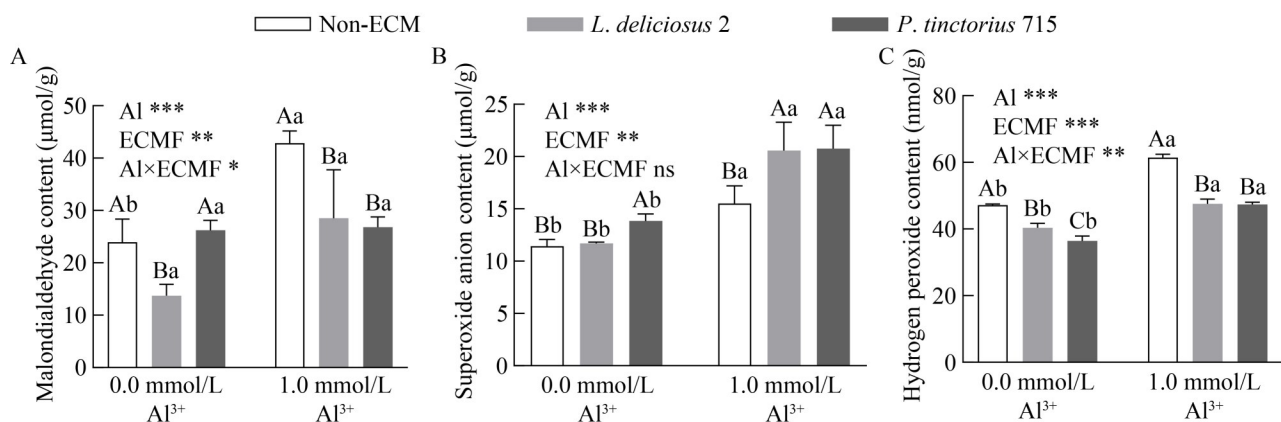


图3 接种ECMF对铝胁迫下马尾松细根质膜透性和ROS含量的影响。A: 丙二醛; B: 超氧阴离子; C: 过氧化氢。

Figure 3 Effects of ECMF inoculation on plasma membrane permeability and ROS content in roots of *Pinus massoniana* seedlings under Al stress. A: Malondialdehyde; B: Superoxide anion; C: Hydrogen peroxide. Different uppercase or lowercase letters on the bar indicate significant differences among ectomycorrhizal seedlings under the same Al level or between Al levels under the same ectomycorrhizal treatment, respectively ( $P<0.05$ ). \*, \*\*, \*\*\*, and ns indicate  $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ,  $P<0.001$ , and no significant difference, respectively.

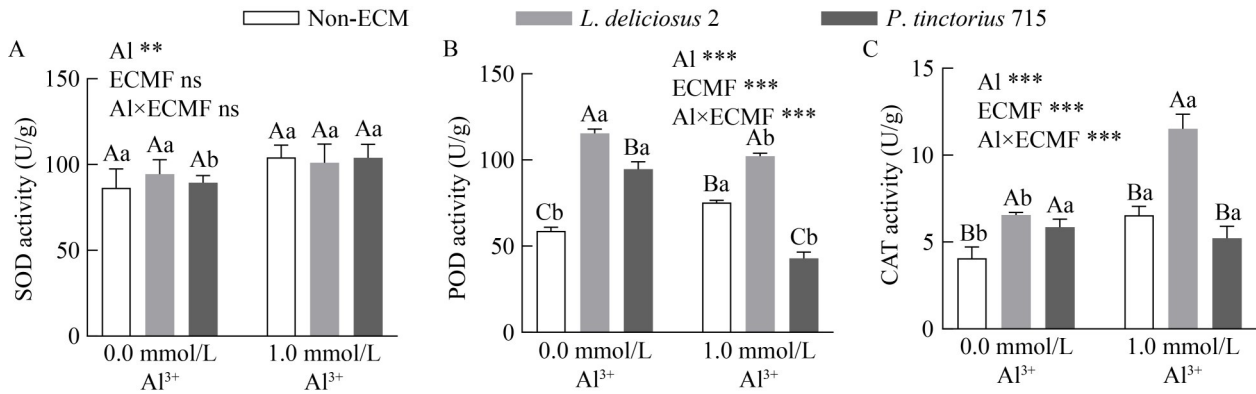


图4 接种ECMF对铝胁迫下马尾松细根抗氧化酶活性的影响。A: 超氧化物歧化酶; B: 过氧化物酶; C: 过氧化氢酶。

Figure 4 Effects of ECMF inoculation on antioxidant enzyme activity in roots of *Pinus massoniana* seedlings under Al stress. A: Superoxide dismutase; B: Peroxidase; C: Catalase. Different uppercase or lowercase letters on the bar indicate significant differences among ectomycorrhizal seedlings under the same Al level or between Al levels under the same ectomycorrhizal treatment, respectively ( $P < 0.05$ ). \*\*, \*\*\*, and ns indicate  $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ , and no significant difference, respectively.

活性, 显著降低 *L. deliciosus 2* 与 *P. tinctorius 715* 菌根苗细根的 POD 活性(图 4B)。与非菌根苗相比, 无铝处理时 *L. deliciosus 2* 和 *P. tinctorius 715* 菌根苗细根的 POD 活性分别显著升高 96.53% 和 61.21%; 铝处理下 *L. deliciosus 2* 菌根苗细根的 POD 活性显著升高 35.70%, 而 *P. tinctorius 715* 菌根苗细根的 POD 活性显著降低 43.05% ( $P < 0.05$ )。与无铝处理相比, 铝处理显著增加非菌根苗和 *L. deliciosus 2* 菌根苗细根的 CAT 活性, 对 *P. tinctorius 715* 菌根苗细根的 CAT 活性无显著改变(图 4C)。与非菌根苗相比, 无铝处理时接种 *L. deliciosus 2* 和 *P. tinctorius 715* 可使马尾松细根的 CAT 活性分别显著升高 61.29% 和 43.98% ( $P < 0.05$ ), 且 2 种菌根苗间无显著差异; 铝处理下 *L. deliciosus 2* 菌根苗细根的 CAT 活性显著升高 75.95% ( $P < 0.05$ ), 而 *P. tinctorius 715* 菌根苗细根的 CAT 活性无显著变化。

#### 2.4 ECMF 对铝胁迫下马尾松细根渗透调节物质含量的影响

铝胁迫和接种 ECMF 均显著影响马尾松细

根的脯氨酸、可溶性糖与可溶性蛋白含量, 且 2 种处理间具有显著交互作用( $P < 0.001$ , 图 5)。与无铝处理相比, 铝处理显著增加马尾松非菌根苗和 *L. deliciosus 2* 菌根苗细根中脯氨酸含量 ( $P < 0.05$ ), 对 *P. tinctorius 715* 菌根苗细根中的脯氨酸含量无显著影响(图 5A)。与非菌根苗相比, 无铝处理时接种 *L. deliciosus 2* 和 *P. tinctorius 715* 对马尾松细根中的脯氨酸含量无显著影响; 铝处理下接种 *L. deliciosus 2* 和 *P. tinctorius 715* 则分别使细根中的脯氨酸含量显著降低 20.73% 和 11.59% ( $P < 0.05$ ), 且 *P. tinctorius 715* 菌根苗细根中的脯氨酸含量显著高于 *L. deliciosus 2* 菌根苗。与无铝处理相比, 铝处理显著增加马尾松非菌根苗、*L. deliciosus 2* 和 *P. tinctorius 715* 菌根苗细根中的可溶性糖含量(图 5B)。与非菌根苗相比, 无铝处理时接种 *L. deliciosus 2* 和 *P. tinctorius 715* 均显著升高马尾松幼苗细根的可溶性糖含量( $P < 0.05$ ), 铝处理时则无显著改变。与无铝处理相比, 铝处理显著增加马尾松非菌根苗、*L. deliciosus 2* 和 *P. tinctorius 715* 菌根苗细根中的可溶性蛋白含量(图 5C)。与非菌根苗

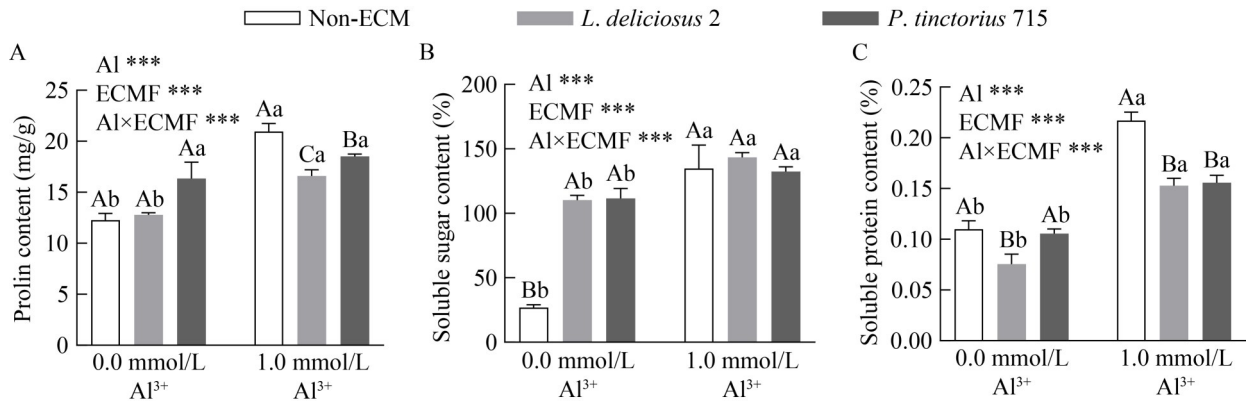


图5 接种ECMF对铝胁迫下马尾松细根渗透调节物质的影响。A: 脯氨酸; B: 可溶性糖; C: 可溶性蛋白。

Figure 5 Effects of ECMF inoculation on osmotic regulators in roots of *Pinus massoniana* seedlings under Al stress. A: Proline; B: Soluble sugar; C: Soluble protein. Different uppercase or lowercase letters on the bar indicate significant differences among ectomycorrhizal seedlings under the same Al level or between Al levels under the same ectomycorrhizal treatment, respectively ( $P < 0.05$ ). \*\*\* indicate  $P < 0.001$ .

相比, 无铝处理下接种 *L. deliciosus* 2 显著降低马尾松幼苗细根的可溶性蛋白含量( $P < 0.05$ ), 接种 *P. tinctorius* 715 则无显著影响; 铝处理下接种 *L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 显著降低细根的可溶性蛋白含量( $P < 0.05$ ), 且 2 种菌根苗间细根的可溶性蛋白含量无显著差异。

## 2.5 马尾松幼苗生长参数与细根抗氧化生理指标间的相关性分析

马尾松幼苗生物量、细根形态参数与细根质膜透性、ROS 水平、渗透调节物质含量、抗氧化酶活性之间存在一定相关性(图 6)。马尾松幼苗生物量与总根长、根表面积、根体积、平均根直径、根尖数等细根形态参数及 POD 活性显著正相关, 与 MDA、 $O_2^-$ 、 $H_2O_2$ 、脯氨酸、可溶性蛋白含量间显著负相关, 这表明铝胁迫下细根抗氧化酶系统与渗透调节系统相互协同调控马尾松幼苗生长。MDA 与  $H_2O_2$ 、脯氨酸、可溶性蛋白含量间显著正相关, 说明渗透调节物质与 ROS 水平共同影响质膜透性。 $O_2^-$ 与脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白含量及 SOD、CAT 活性间显著正相关,  $H_2O_2$  与脯氨酸、可溶性蛋

白含量及 SOD 活性间显著正相关, 说明渗透调节物质与抗氧化酶相互协同清除 ROS。脯氨酸与可溶性糖、可溶性蛋白含量间显著正相关, 说明三者协同调控马尾松幼苗根内渗透压。POD 与 CAT 活性间显著正相关, 说明二者相互协同, 参与马尾松根内抗氧化防御。

## 2.6 PLS-PM 路径分析

偏最小二乘路径模型(PLS-PM)表明, 铝胁迫下马尾松幼苗生长与抗氧化生理响应关联机制的整体拟合优度良好( $GOF = 0.766$ ) (图 7)。铝胁迫通过激活 ROS 积累( $P < 0.01$ )介导生理胁迫直接抑制根系形态发育( $P < 0.01$ ), 进而影响马尾松幼苗生物量积累( $P < 0.01$ )。接种 ECMF 则通过促进根系形态发育( $P < 0.01$ )产生级联效应, 降低 ROS 水平, 增强抗氧化系统防御能力, 从而协同抵御铝毒胁迫。值得注意的是, *L. deliciosus* 2 对根系发育的促进作用显著强于 *P. tinctorius* 715 ( $P < 0.01$ ), 其促生潜力比 *P. tinctorius* 715 更大。与 ROS 水平相比, 抗氧化酶系统的变异解释度相对较低( $R^2 = 0.455$ ), 这可能与 SOD 的载荷系数较小(0.470)有关。

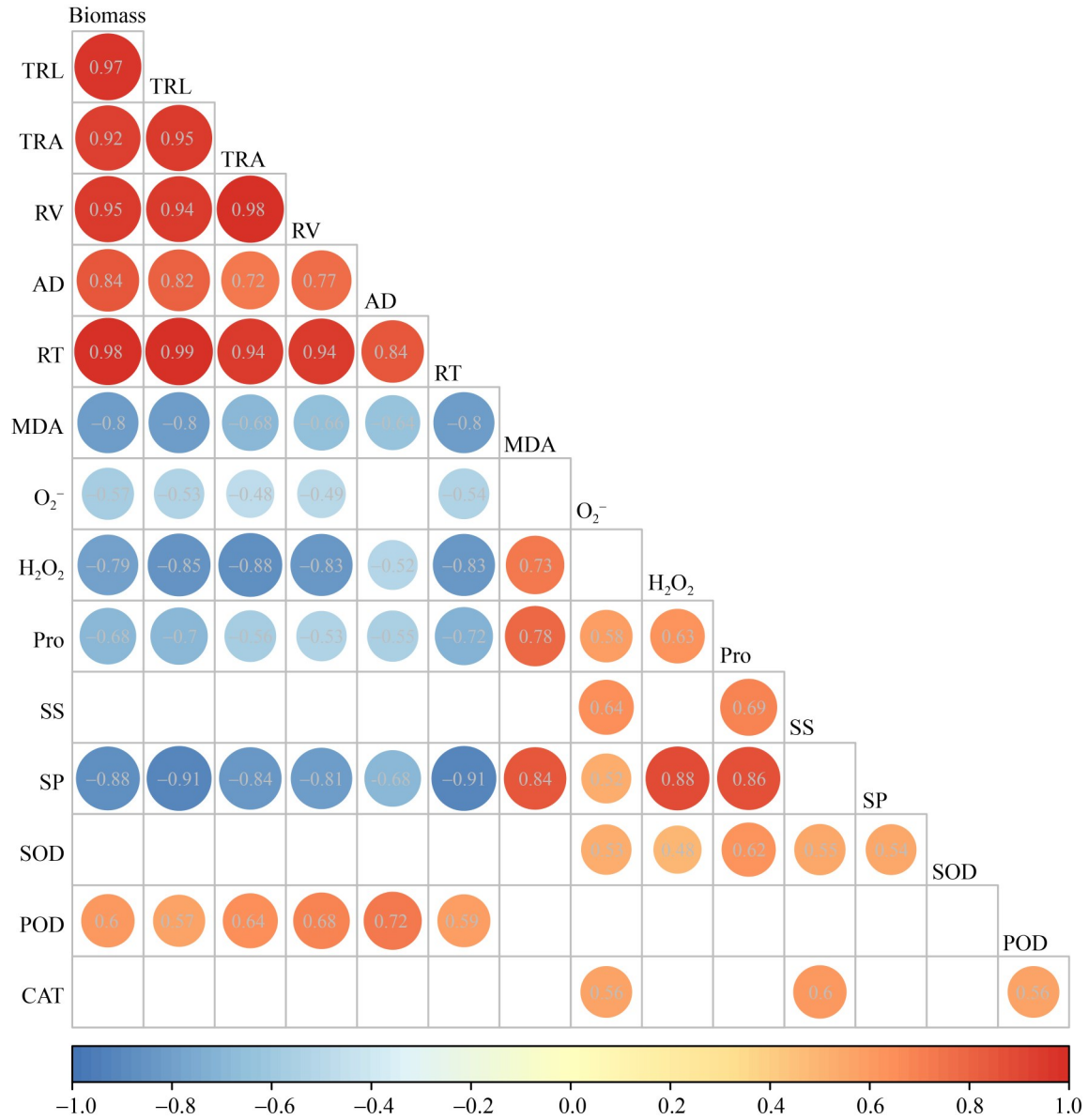


图6 马尾松幼苗生长参数与细根抗氧化生理指标间的相关性( $n=18$ )。图中红色和蓝色圆形分别表示显著正相关和负相关( $P<0.05$ )。TRL: 总根长; TRA: 根表面积; RV: 根体积; AD: 平均根直径; RT: 总根尖数; MDA: 丙二醛含量; O<sub>2</sub><sup>-</sup>: 超氧阴离子含量; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: 过氧化氢含量; Pro: 脯氨酸含量; SS: 可溶性糖含量; SP: 可溶性蛋白含量; SOD: 超氧化物歧化酶活性; POD: 过氧化物酶活性; CAT: 过氧化氢酶活性。

Figure 6 Correlation between growth parameters and roots' antioxidant physiological indexes of *Pinus massoniana* seedlings ( $n=18$ ). Red and blue circles in the figure indicate significant positive and negative correlation, respectively ( $P<0.05$ ). TRL: Total root length; TRA: Root surface area; RV: Root volume; AD: Average root diameter; RT: Total root tips; MDA: Malondialdehyde content; O<sub>2</sub><sup>-</sup>: Superoxide anion content; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hydrogen peroxide content; Pro: Proline content; SS: Soluble sugar content; SP: Soluble protein content; SOD: Superoxide dismutase activity; POD: Peroxidase activity; CAT: Catalase activity.

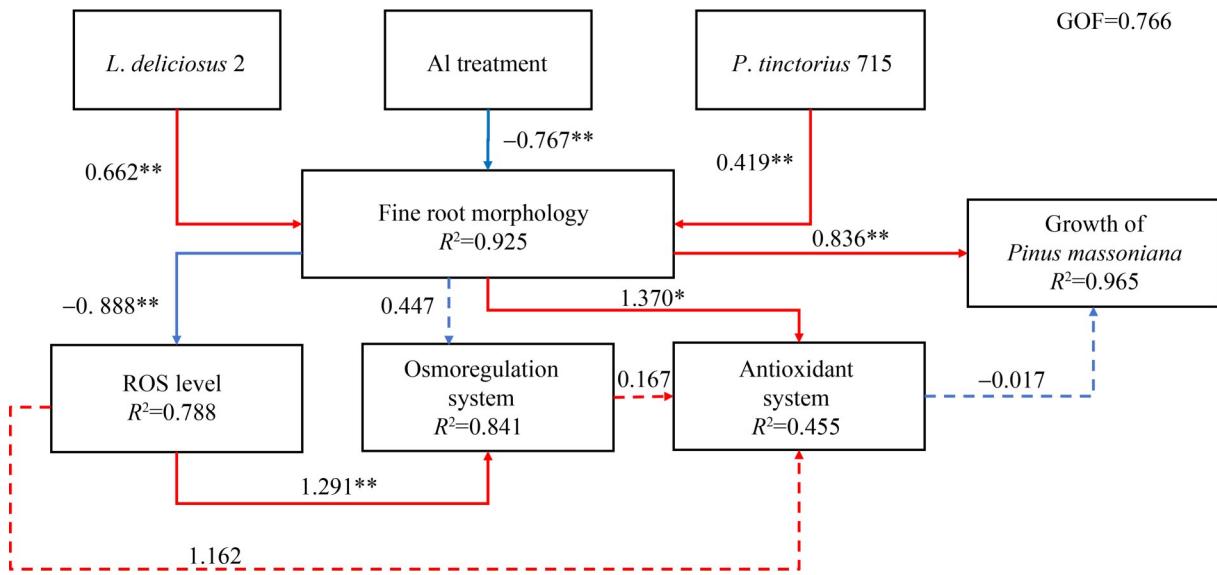


图7 马尾松生长与抗氧化生理的PLS-PM路径分析系数图。实线代表影响显著，虚线代表影响不显著。红色代表2个潜变量之间正相关，蓝色代表负相关。GOF值为模型拟合优度。

Figure 7 The conceptual coefficient diagram through PLS-PM path analysis of growth and anti-oxidative physiology in *Pinus massoniana*. Solid lines indicate significant effects, while dashed lines indicate non-significant effects. Red represents a positive correlation between two latent variables, and blue represents a negative correlation. The GOF value is the goodness-of-fit of the model. \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ .

## 2.7 隶属函数分析

对马尾松幼苗生长及细根抗氧化生理指标的隶属函数分析结果(表 1)显示, 与非菌根苗相比, 无论有无铝处理时接种 *L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 均能显著提高马尾松幼苗的综合隶属函数值, 且 *L. deliciosus* 2 的提升效果优于 *P. tinctorius* 715。 *L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 定殖均能显著提升马尾松幼苗在无铝 (0.0 mmol/L  $Al^{3+}$ ) 和铝胁迫 (1.0 mmol/L  $Al^{3+}$ ) 条件下的综合表现。在铝处理条件下两者均能促进植株和细根生长发育、减轻膜脂过氧化、有效清除  $H_2O_2$  并减少渗透调节物质积累。相较于 *P. tinctorius* 715、*L. deliciosus* 2 在铝胁迫条件下的抗铝毒能力更强, 在扩大细根表面积、根体积和平均根直径、减少脯氨酸积累以及激活 POD、CAT 活性方面表现尤为突出。

## 3 讨论

### 3.1 接种 ECMF 对铝胁迫下马尾松幼苗生长和细根形态的影响

铝胁迫会抑制植物的根系生长, 降低植株生物量, 导致植物无法正常生长和发育<sup>[20,25]</sup>。接种 ECMF 能够有效缓解铝毒对宿主植物生长的抑制作用, 是提高植物抗铝毒能力的有效途径<sup>[18,26]</sup>。本研究发现, 与非菌根苗相比, 接种 *L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 可显著增加铝胁迫下马尾松幼苗的生物量、总根长、根表面积、根体积和根尖数(图 2), 表明 ECMF 侵染有助于促进马尾松幼苗根系的伸长生长和侧根分生, 扩大养分吸收范围和面积, 增强宿主植物对养分的吸收和利用<sup>[13]</sup>, 进而提高植物的抗铝能力。ECM 共生能够改善马尾松细根形态, 这不仅得益于 ECMF 侵入植物根系后形成的菌套与哈蒂氏网等特定结构, 还与植物细根形态的

表1 隶属函数值及综合排名  
Table 1 Membership function values and comprehensive rankings

$c(\text{Al}^{3+})$ (mmol/L)	ECMF	Membership value													Rank				
		Biomass root length	Total root length area	Root volume	Average root diameter	Total root tips	MDA content	$\text{O}_2^-$ content	$\text{H}_2\text{O}_2$ content	Proline content	Soluble sugar content	Soluble protein content	SOD activity	POD activity		CAT activity	Aggregated membership function value		
0.0	Non-ECMF	0.37	0.40	0.33	0.23	0.07	0.40	0.65	1.00	0.57	1.00	1.00	1.00	0.76	1.00	0.22	1.00	0.57	3
	<i>L. delictiosus</i> 2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.97	0.84	0.94	0.28	1.00	0.55	1.00	0.67	0.86	0.86	1
	<i>P. tinctorius</i> 715	0.64	0.73	0.99	0.90	0.22	0.68	0.57	0.74	1.00	0.53	0.27	0.79	0.83	0.71	0.76	0.64	0.64	2
1.0	Non-ECMF	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.56	0.00	0.00	0.07	0.00	0.00	0.45	0.67	0.10	0.10	6
	<i>L. delictiosus</i> 2	0.21	0.24	0.30	0.25	0.22	0.24	0.49	0.02	0.55	0.50	0.00	0.45	0.17	0.82	0.00	0.26	0.26	4
	<i>P. tinctorius</i> 715	0.20	0.28	0.22	0.14	0.03	0.25	0.55	0.00	0.56	0.28	0.09	0.43	0.02	0.00	0.84	0.19	0.19	5

高度可塑性密切相关<sup>[19]</sup>。ECMF 侵染植物根系后, 菌丝在根尖表皮细胞间增殖形成菌套, 通过酶解果胶和机械力侵入皮层形成哈蒂氏网<sup>[27]</sup>, 从而增加根直径和根体积。此外, *L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 定殖还会改变植物体内生长素等内源激素含量<sup>[28]</sup>。由于植物细根形态具有高度可塑性, 根长、根表面积和根尖数会随之增加。未来研究可进一步探索 *L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 是否还通过其他特定分泌物(如茉莉酸甲酯、水杨酸等)来改善细根形态。

### 3.2 接种 ECMF 对铝胁迫下马尾松幼苗细根抗氧化酶活性的影响

植物的膜系统是外界环境伤害的原初位点, 铝对植物的毒害作用与植物细胞氧化损伤密切相关<sup>[14]</sup>。当细胞膜受到损伤时会发生脂质过氧化反应, 其产物 MDA 常被广泛用于表征细胞膜受损程度<sup>[29-30]</sup>。本研究发现, 铝处理显著增加了马尾松非菌根苗细根的 MDA 含量(图 3A), 说明马尾松细根质膜透性因铝处理而增大。 $\text{Al}^{3+}$  与细胞质膜表面的羧基、磷酸基团等结合会降低细胞膜流动性, 进而引发细胞膜功能受损<sup>[31]</sup>, 而且铝毒诱导的非菌根苗细根 ROS 过量积累(图 3B、3C)也会加剧膜脂过氧化, 破坏细胞膜的完整性<sup>[14]</sup>。在铝处理条件下, *L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 菌根苗细根的 MDA 含量显著低于非菌根苗(图 3A), 说明 ECMF 侵染能够有效缓解铝毒对马尾松根系细胞膜的损伤。与本研究成果类似, 在蒙古栎(*Quercus mongolica*)幼苗遭受盐胁迫和山新杨(*Populus davidiana* × *P. bolleana*)幼苗遭受干旱胁迫时 ECMF 的定殖均能显著减轻宿主植物细胞的膜脂过氧化和细胞膜损伤程度<sup>[32-33]</sup>。可见, 当植物遭受不良环境胁迫时 ECM 共生能够有效保护细胞质膜, 减轻胁迫损伤。ECM 菌套在细根表面的缠绕包裹以及哈蒂氏网在皮层细胞间形成的致密物理屏障阻隔了不良环境与细根细胞的直接接触和伤害<sup>[34]</sup>, 加上抗氧化防御系统的激活均有助于

ECM 提高宿主植物抵御外界伤害的能力。

铝胁迫会引起植物体内  $\text{O}_2^-$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  等 ROS 的积累, 导致氧化应激, 打破 ROS 在植物体内的动态平衡, 造成细胞损伤, 妨碍细胞正常功能, 进而抑制植物生长<sup>[25]</sup>。本研究发现, 铝处理后马尾松幼苗细根的 ROS 含量显著上升(图 3B、3C), 与 Huang 等<sup>[35]</sup>和 Awasthi 等<sup>[36]</sup>发现的铝胁迫会引发植物  $\text{O}_2^-$  含量增加的结果一致。在铝处理条件下接种 *L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 显著降低了马尾松细根  $\text{H}_2\text{O}_2$  含量, 但显著增加了马尾松细根的  $\text{O}_2^-$  含量(图 3B、3C), 这与刘海燕等<sup>[14]</sup>发现的接种褐环乳牛肝菌减少铝胁迫下马尾松根尖  $\text{O}_2^-$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  及总 ROS 积累的结果不完全一致。 $\text{O}_2^-$  含量增加应与清除 ROS 的抗氧化酶有关。在植物根尖细胞中线粒体是植物细胞 ROS 生成的主要场所,  $\text{O}_2^-$  主要由线粒体电子传递链、质膜氧化酶或环境胁迫产生<sup>[35,37]</sup>, 经 SOD 催化歧化为  $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{O}_2$ 。 $\text{O}_2^-$  的清除主要依赖 SOD, 而 *L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 菌根苗细根这 SOD 活性与非菌根苗相比并未显著变化(图 4A), 导致  $\text{O}_2^-$  因未能及时转化为  $\text{H}_2\text{O}_2$  而过量积累, 但这种积累并未对菌根苗造成损伤(图 2)。

ROS 作为信号分子可以激活植物的铝耐受机制, 但 ROS 积累过量会使耐铝机制失效<sup>[36]</sup>。植物可以利用抗氧化系统清除过量 ROS。SOD 是抗氧化防御的第一道防线, 它催化  $\text{O}_2^-$  分解为  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  随后经 POD 和 CAT 等酶的共同作用还原到水中<sup>[38]</sup>。Sun 等<sup>[39]</sup>和 Yin 等<sup>[40]</sup>发现, 褐环乳牛肝菌等 ECMF 可以通过提高 SOD、POD 和 CAT 等抗氧化酶活性帮助麻栎(*Quercus acutissima*)、樟子松(*Pinus sylvestris* var. *mongolica*)等宿主植物抵御镉胁迫及干旱胁迫。本研究却发现, 与非菌根苗相比, 2 种 ECMF 除对细根 SOD 活性无显著改变外, 铝处理后马尾松幼苗细根抗氧化酶活性的反应因 ECMF 和抗氧化酶种类而异(图 4): *L. deliciosus* 2 显著升高了细根 POD 与 CAT 活性, 而 *P. tinctorius* 715 则显著降

低了细根 POD 活性, 对 CAT 活性无显著影响。当马尾松幼苗感应到铝毒胁迫时会产生氧化应激反应, 积累大量  $O_2^-$ , SOD 在短期内活性升高用以分解  $O_2^-$ , 但过量  $O_2^-$  积累会抑制 SOD 活性<sup>[41]</sup>。此外, 植物根际土中铝浓度和形式的变化可能导致 SOD 活性波动, 不同亚型 SOD 在植物中的活性表现也存在差异<sup>[42]</sup>。POD 除清除  $H_2O_2$  减缓氧化损伤外, 还介导木质素的单体物质合成, 而接种 ECMF 有助于促进马尾松细根木质部的生成<sup>[28]</sup>。因此, *L. deliciosus* 2 的定殖提高了马尾松细根 POD 活性, 不仅有助于减轻铝毒对马尾松细根的氧化损伤, 还可能参与到细根木质部细胞的形成而进一步提高马尾松的耐铝性, 而 *P. tinctorius* 715 的定殖则未成功激活 POD 介导的防御机制, 可能依赖于其他非 POD 主导的耐性途径, 在未来研究中可对此进行探索。

### 3.3 接种 ECMF 对铝胁迫下马尾松幼苗细根渗透调节物质含量的影响

植物可以通过促进脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白等渗透调节物质的合成来维持细胞内渗透平衡, 提高植物细胞抵御金属及其他环境胁迫的能力<sup>[43-44]</sup>。脯氨酸是植物细胞质中的游离氨基酸, 具有渗透调节剂和抗氧化调节剂的作用, 可保护植物膜系统<sup>[42,45]</sup>。铝胁迫下, 植物可以通过上调胞内脯氨酸含量降低渗透势, 防止细胞脱水<sup>[40]</sup>。马尾松非菌根苗针叶中脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白等渗透调节物质的积累在铝处理后会增加<sup>[46]</sup>, 在本研究的马尾松非菌根苗细根中也发现了类似结果(图 5)。与非菌根苗相比, 铝处理下接种 *L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 会显著降低马尾松幼苗细根中的脯氨酸和可溶性蛋白含量, 而可溶性糖含量无显著变化。张中峰等<sup>[47]</sup>和陈建妙等<sup>[48]</sup>的研究也发现, 干旱胁迫下接种彩色豆马勃会降低青冈栎(*Cyclobalanopsis glauca*)和麻栎中的脯氨酸含量。在王文波等<sup>[32]</sup>、张天泽等<sup>[33]</sup>对蒙古栎

与山新杨抵御盐胁迫和干旱胁迫的研究中则发现, 厚环乳牛肝菌(*Suillus grevillea*)、美味牛肝菌(*Boletus edulis*)、褐环乳牛肝菌和卷边桩菇(*Paxillus involutus*)等 ECMF 的侵染增加了植物脯氨酸、可溶性糖和可溶性蛋白含量。究其原因, 可能与供试植物、ECMF 与逆境胁迫种类不同有关。Gu 等<sup>[12]</sup>研究发现双色蜡蘑可能通过磷的活化改善马尾松幼苗对养分及水分的吸收, 植物可能无需积累大量可溶性糖维持渗透平衡, 这导致了 *L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 菌根苗与非菌根苗间可溶性糖含量无显著差别。Li 等<sup>[49]</sup>研究发现接种褐环乳牛肝菌可以调整马尾松碳分配模式, 提高渗透调节能力。本研究中马尾松 *L. deliciosus* 2 和 *P. tinctorius* 715 菌根苗脯氨酸含量的降低也可能是因为菌根共生优化了植物资源分配策略<sup>[49]</sup>, 将原本用于脯氨酸合成的氮源和能量转向了其余抗逆途径, *L. deliciosus* 2 菌根苗脯氨酸含量低于 *P. tinctorius* 715 菌根苗, 说明 *P. tinctorius* 715 菌根苗细根细胞实际承受的铝毒压力仍大于 *L. deliciosus* 2 菌根苗, 因此仍需动员相对更多的脯氨酸来维持细胞稳态, 反映了其耐铝性的相对不足。植物通常会通过合成应激相关蛋白来应对铝毒<sup>[50]</sup>, 本研究中 2 种菌根苗可溶性蛋白含量的降低可能与因铝毒减轻后菌根苗对此类蛋白的合成需求降低有关。因此, 接种 ECMF 对铝毒下的马尾松细根起到了较好的保护作用, 细根只需较低的渗透调节物质即可维持渗透平衡。

## 4 结论

通过研究 ECMF 侵染对铝胁迫下马尾松幼苗细根形态参数和抗氧化生理的影响发现, 接种 ECMF 是提高马尾松耐铝性的有效生态策略, 其核心机制在于 ECMF 通过双重途径介导了马尾松对铝胁迫的响应: 一方面, 通过促进细根形态发育增强马尾松根系对水分和养分的获取能力, 为铝胁迫下的生长提供物质基础; 另一方面, 通过调节细根生理状态有效缓解氧化胁迫

迫、维持细胞膜结构完整性并减少渗透调节物质的合成,从而直接抵御铝对根的原初毒害。此外,本研究揭示了 ECMF 菌种间存在功能差异, *L. deliciosus* 2 在促进根系构建和抗氧化系统活性方面表现出比 *P. tinctorius* 715 更优的效果。

### 作者贡献声明

文思伽: 查询文献, 数据分析, 撰写文章并修改; 辜夕容: 文章选题与设计, 指导并修改文章, 指导回答编辑部问题, 课题支撑; 李昂: 执行实验和数据收集; 吕亚茹: 文章修改并润色; 徐诗蕊: 参与研究讨论; 周晓宇: 协助实验操作。

### 作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

### 参考文献

- [1] KOCHIAN LV, PIÑEROS MA, LIU JP, MAGALHAES JV. Plant adaptation to acid soils: the molecular basis for crop aluminum resistance[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2015, 66: 571-598.
- [2] 冯宗炜. 酸雨对生态系统的影响西南地区酸雨研究[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1993.  
FENG ZW. Effects of Acid Rain on Ecosystem: A Study on Acid Rain in Southwest China[M]. Beijing: China Science and Technology Press, 1993 (in Chinese).
- [3] NINGOMBAM L, HAZARIKA BN, SINGH YD, SINGH RP, YUMKHAIBAM T. Aluminium stress tolerance by *Citrus* plants: a consolidated review[J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2024, 30(5): 705-718.
- [4] 程晓晴, 方婷玉, 李凤杰, 安渊, 周鹏. 喷施水杨酸对铝胁迫紫花苜蓿幼苗光合作用和光化学系统的影响[J]. *中国草地学报*, 2020, 42(4): 42-49.  
CHENG XQ, FANG TY, LI FJ, AN Y, ZHOU P. Effects of salicylic acid spraying on photosynthesis and photochemical system of alfalfa (*Medicago sativa* L.) under aluminum stress[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2020, 42(4): 42-49 (in Chinese).
- [5] 汪远秀, 李快芬, 丁贵杰, 刘海燕. 铝对马尾松菌根苗生长及营养元素吸收的影响[J]. *森林与环境学报*, 2020, 40(2): 119-125.  
WANG YX, LI KF, DING GJ, LIU HY. Effects of aluminum on growth and nutrient element absorption of mycorrhizal *Pinus massoniana* seedlings[J]. *Journal of Forest and Environment*, 2020, 40(2): 119-125 (in Chinese).
- [6] 沈心涛, 涂保华, 刘朝阳, 赵远, 丁骥贤, 梁玉婷. 酸性逆境土壤中根际微生物调控植物根系构型的作用机制[J]. *环境科学*, 2025, 46(1): 570-578.  
SHEN XT, TU BH, LIU CY, ZHAO Y, DING JX, LIANG YT. Mechanisms of rhizosphere microorganisms in regulating plant root system architecture in acidic soils[J]. *Environmental Science*, 2025, 46(1): 570-578 (in Chinese).
- [7] LING JY, TAN JH, CHEN H, YANG ZQ, LUO QF, JIA J. Physiology, transcriptome and root exudates analysis of response to aluminum stress in *Pinus massoniana*[J]. *Forests*, 2023, 14(7): 1410.
- [8] ZENG H, LI YR, CHEN WJ, YAN JW, WU JS, LOU HQ. Melatonin alleviates aluminum toxicity by regulating aluminum-responsive and nonresponsive pathways in hickory[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 460: 132274.
- [9] YAN L, LI S, CHENG J, LIU Y, LIU JH, JIANG CC. Boron contributes to excessive aluminum tolerance in trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) by inhibiting cell wall deposition and promoting vacuole compartmentation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 437: 129275.
- [10] 郭晴艳, 关统伟, 沈治荣, 贾剑. 酸性土壤铝毒害研究进展与展望[J]. *现代农业科技*, 2023(9): 147-153.  
GUO QY, GUAN TW, SHEN ZR, JIA J. Research progress on aluminum toxicity in acidic soil and its prospects[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2023(9): 147-153 (in Chinese).
- [11] BRUNDRETT MC. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis[J]. *Plant and Soil*, 2009, 320(1): 37-77.
- [12] GU XR, LI J, WANG XH, HE XH, CUI Y. *Laccaria bicolor* mobilizes both labile aluminum and inorganic phosphate in rhizosphere soil of *Pinus massoniana* seedlings field grown in a yellow acidic soil[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(8): e03015-19.
- [13] 辜夕容, 倪亚兰, 江亚男, 贾豪. 接种双色蜡蘑对酸性铝胁迫下马尾松幼苗生长、养分和铝吸收与分布的影响[J]. *林业科学*, 2018, 54(2): 170-178.  
GU XR, NI YL, JIANG YN, JIA H. Effects of *Laccaria bicolor* on growth, uptake and distribution of nutrients and aluminum of *Pinus massoniana* seedlings under acid aluminum exposure[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2018, 54(2): 170-178 (in Chinese).
- [14] 刘海燕, 李快芬, 陈后英, 丁贵杰. 铝对马尾松菌根化幼苗抗逆生理和根尖细胞超微结构的影响[J]. *林业科学研究*, 2024, 37(1): 21-30.  
LIU HY, LI KF, CHEN HY, DING GJ. Effects of aluminum on stress resistance physiology and root tip cell ultrastructure of mycorrhizal seedlings of *Pinus massoniana*[J]. *Forest Research*, 2024, 37(1): 21-30 (in Chinese).
- [15] 王明霞, 袁玲, 黄建国, 周志峰. 4株外生菌根真菌对 Al<sup>3+</sup>吸收与吸附的研究[J]. *环境科学*, 2015, 36(9): 3479-3485.

- WANG MX, YUAN L, HUANG JG, ZHOU ZF.  $Al^{3+}$  absorption and assimilation by four ectomycorrhizal fungi[J]. *Environmental Science*, 2015, 36(9): 3479-3485 (in Chinese).
- [16] 冯婧玮, 冯万艳, 孙学广. 粘盖乳牛肝菌在低磷、酸铝胁迫下的生长和代谢响应[J]. *菌物学报*, 2022, 41(7): 1055-1067.  
FENG JW, FENG WY, SUN XG. Growth and metabolic responses of *Suillus bovinus* under low phosphorus and acidic-aluminum stress[J]. *Mycosystema*, 2022, 41(7): 1055-1067 (in Chinese).
- [17] 祁金玉, 邓继峰, 尹大川, 蔡立新, 刘冬萍, 张丽丽, 林梅. 外生菌根菌对油松幼苗抗氧化酶活性及根系构型的影响[J]. *生态学报*, 2019, 39(8): 2826-2832.  
QI JY, DENG JF, YIN DC, CAI LX, LIU DP, ZHANG LL, LIN M. Effects of inoculation of exogenous mycorrhizal fungi on the antioxidant and root configuration enzyme activity of *Pinus tabulaeformis* seedlings[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(8): 2826-2832 (in Chinese).
- [18] GU XR, JIA H, WANG XH, JIANG YN, LI J, HE XH. Differential aluminum tolerance and absorption characteristics in *Pinus massoniana* seedlings colonized with ectomycorrhizal fungi of *Lactarius deliciosus* and *Pisolithus tinctorius*[J]. *Journal of Forestry Research*, 2023, 34(5): 1523-1533.
- [19] 胡佳, 吕亚茹, 辜夕容, 周倩, 邓杨宵, 陈东梅. 接种外生菌根真菌对铝胁迫下马尾松幼苗根形态性状的影响[J]. *森林与环境学报*, 2025, 45(2): 184-191.  
HU J, LYU YR, GU XR, ZHOU Q, DENG YX, CHEN DM. Effect of inoculation with ectomycorrhizal fungi on root morphological traits of *Pinus massoniana* seedlings under aluminium stress[J]. *Journal of Forest and Environment*, 2025, 45(2): 184-191 (in Chinese).
- [20] GU XR, JIANG YN, WANG XH, JIA H, LI J, CUI Y, HU J, MAO QZ, HE XH. Differences in aluminum tolerance and immobilization between two indigenous ectomycorrhizal fungi *Lactarius deliciosus* and *Pisolithus tinctorius* from Southwest China's forest stands[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 213: 112042.
- [21] 柳若安, 刘厚田. 酸度和铝对马尾松生长的影响[J]. *植物学报*, 1995, 37(2): 154-158.  
LIU RA, LIU HT. Effect of acidity and aluminium on the growth of *Pinus massoniana* seedlings[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 1995, 37(2): 154-158 (in Chinese).
- [22] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.  
GAO JF. *Laboratory Manual for Plant Physiology*[M]. Beijing: Higher Education Press, 2006 (in Chinese).
- [23] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 1980.  
ZHANG ZL, QU WJ. *Experimental Guide for Plant Physiology*[M]. Beijing: Higher Education Press, 1980 (in Chinese).
- [24] 张辉红, 魏畅, 柳海涛, 张静静, 刘芳, 赵颖, 张雪海, 李鸽子, 姜瑛. 外源锌对镉胁迫下玉米幼苗生长及根系构型分级的影响[J]. *环境科学*, 2024, 45(2): 1128-1140.  
ZHANG HH, WEI C, LIU HT, ZHANG JJ, LIU F, ZHAO Y, ZHANG XH, LI GZ, JIANG Y. Effects of exogenous zinc on growth and root architecture classification of maize seedlings under cadmium stress[J]. *Environmental Science*, 2024, 45(2): 1128-1140 (in Chinese).
- [25] OFOE R, THOMAS RH, ASIEDU SK, WANG-PRUSKI G, FOFANA B, ABBEY L. Aluminum in plant: benefits, toxicity and tolerance mechanisms[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 13: 1085998.
- [26] FENG WY, FENG JW, DING GJ, SUN XG. Metabolic adaptations of *Pinus massoniana* to low phosphorus and acidic aluminium with or without ectomycorrhization[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2024, 218: 105619.
- [27] GENRE A, LANFRANCO L, PEROTTO S, BONFANTE P. Unique and common traits in mycorrhizal symbioses[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 18(11): 649-660.
- [28] 王小河. 菌根化马尾松幼苗在酸性铝胁迫下的细根形态结构、激素合成与分泌特征[D]. 重庆: 西南大学, 2020.  
WANG XH. Fine root morphology, hormone synthesis and secretion characteristics of ectomycorrhizal *Pinus massoniana* seedlings under acid aluminum stress[D]. Chongqing: Southwest University, 2020 (in Chinese).
- [29] BU RF, ZHANG HR, ZHANG S, WANG LS, PENG CY, ZHAO XH, ZHANG XN, XIE JM. Silicon alleviates autotoxicity by regulating membrane lipid peroxidation and improving photosynthetic efficiency in cucumber seedlings (*Cucumis sativus* L.)[J]. *Scientia Horticulturae*, 2024, 325: 112692.
- [30] 魏畅, 马耀武, 张振宇, 张麒宇, 吴天赐, 焦秋娟, 申凤敏, 刘芳, 赵颖, 姜瑛, 柳海涛. 硅锌互作对镉胁迫下玉米生长及生理参数的影响[J]. *环境科学*, 2025, 46(4): 2557-2570.  
WEI C, MA YW, ZHANG ZY, ZHANG QY, WU TC, JIAO QJ, SHEN FM, LIU F, ZHAO Y, JIANG Y, LIU HT. Effects of silicon-zinc interaction on growth and physiological parameters of maize under cadmium stress[J]. *Environmental Science*, 2025, 46(4): 2557-2570 (in Chinese).
- [31] SINGH S, TRIPATHI DK, SINGH S, SHARMA S, DUBEY NK, CHAUHAN DK, VACULÍK M. Toxicity of aluminium on various levels of plant cells and organism: a review[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2017, 137: 177-193.
- [32] 王文波, 郝汉, 胡增辉, 冷平生, 卢存福. 菌根化提高蒙古栎幼苗盐胁迫下的光合作用与抗氧化能力[J]. *应用与环境生物学报*, 2024, 30(2): 335-343.  
WANG WB, HAO H, HU ZH, LENG PS, LU CF. Ectomycorrhizal *Quercus mongolica* seedlings improve their photosynthesis and antioxidant capacity under salt stress[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2024, 30(2): 335-343 (in Chinese).
- [33] 张天泽, 孟凡君, 尹大川. 干旱胁迫下外生菌根菌对山新杨幼苗生物量、渗透调节物质和抗氧化酶的影响[J]. *菌物学报*, 2023, 42(7): 1558-1574.  
ZHANG TZ, MENG FJ, YIN DC. Effects of

- ectomycorrhizal fungi on biomass, osmoregulatory substances and antioxidant enzymes of *Populus davidiana* × *P. bolleana* seedlings under drought stress[J]. *Mycosystema*, 2023, 42(7): 1558-1574 (in Chinese).
- [34] BASSO V, KOHLER A, MIYAUCHI S, SINGAN V, GUINET F, ŠIMURA J, NOVÁK O, BARRY KW, AMIREBRAHIMI M, BLOCK J, DAGUERRE Y, NA H, GRIGORIEV IV, MARTIN F, VENEAL-FOURREY C. An ectomycorrhizal fungus alters sensitivity to jasmonate, salicylate, gibberellin, and ethylene in host roots[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2020, 43(4): 1047-1068.
- [35] HUANG WJ, YANG XD, YAO SC, HE HY, WANG AQ, LI CZ, HE LF. Reactive oxygen species burst induced by aluminum stress triggers mitochondria-dependent programmed cell death in peanut root tip cells[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, 82: 76-84.
- [36] AWASTHI JP, SAHA B, PANIGRAHI J, YANASE E, KOYAMA H, PANDA SK. Redox balance, metabolic fingerprint and physiological characterization in contrasting North East Indian rice for aluminum stress tolerance[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 8681.
- [37] TIWARI BS, BELENGHI B, LEVINE A. Oxidative stress increased respiration and generation of reactive oxygen species, resulting in ATP depletion, opening of mitochondrial permeability transition, and programmed cell death[J]. *Plant Physiology*, 2002, 128(4): 1271-1281.
- [38] GILL SS, TUTEJA N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010, 48(12): 909-930.
- [39] SUN W, YANG BS, ZHU YD, WANG H, QIN GH, YANG HQ. Ectomycorrhizal fungi enhance the tolerance of phytotoxicity and cadmium accumulation in oak (*Quercus acutissima* Carruth.) seedlings: modulation of growth properties and the antioxidant defense responses[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2022, 29(5): 6526-6537.
- [40] YIN DC, WANG HL, QI JY. The enhancement effect of calcium ions on ectomycorrhizal fungi-mediated drought resistance in *Pinus sylvestris* var. *mongolica*[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2021, 40(4): 1389-1399.
- [41] 范拴喜, 张楠, 孙旻涵, 侯宪东. Pb、Zn和Cd复合重金属潜在超富集植物的筛选与胁迫响应特征[J]. *环境科学*, 2024, 45(8): 4870-4882.  
FAN SX, ZHANG N, SUN MH, HOU XD. Screening and stress responsive characteristics of potential hyperaccumulator of Pb, Zn, and Cd compound heavy metals[J]. *Environmental Science*, 2024, 45(8): 4870-4882 (in Chinese).
- [42] ZULFIQAR F, ASHRAF M. Antioxidants as modulators of arsenic-induced oxidative stress tolerance in plants: an overview[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 427: 127891.
- [43] SHARMA A, SHAHZAD B, KUMAR V, KOHLI SK, SIDHU GPS, BALI AS, HANDA N, KAPOOR D, BHARDWAJ R, ZHENG BS. Phytohormones regulate accumulation of osmolytes under abiotic stress[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(7): 285.
- [44] 张静静, 徐正阳, 焦秋娟, 范丽娜, 刘芳, 赵颖, 宋佳, 化党领, 李鸽子, 柳海涛. 稀土元素铈对锌胁迫下小麦幼苗生长的缓解效应[J]. *环境科学*, 2024, 45(2): 1141-1149.  
ZHANG JJ, XU ZY, JIAO QJ, FAN LN, LIU F, ZHAO Y, SONG J, HUA DL, LI GZ, LIU HT. Mitigative effect of rare earth element cerium on the growth of zinc-stressed wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings[J]. *Environmental Science*, 2024, 45(2): 1141-1149 (in Chinese).
- [45] 孙旻涵, 范拴喜, 张楠. 水培条件下聚合草对Pb、Zn和Cd重金属的响应特征[J]. *环境科学*, 2025, 46(7): 4684-4698.  
SUN MH, FAN SX, ZHANG N. Responsive characteristics of *Symphytum officinale* L. to Pb, Zn, and Cd heavy metals under hydroponic conditions[J]. *Environmental Science*, 2025, 46(7): 4684-4698 (in Chinese).
- [46] 李快芬. 菌根化马尾松幼苗对铝胁迫的响应[D]. 贵阳: 贵州大学, 2019.  
LI KF. Response of mycorrhizal *Pinus massoniana* seedlings to aluminum stress[D]. Guiyang: Guizhou University, 2019 (in Chinese).
- [47] 张中峰, 张金池, 黄玉清, 徐广平, 张德楠, 俞元春. 接种菌根真菌对青冈栎幼苗耐旱性的影响[J]. *生态学报*, 2016, 36(11): 3402-3410.  
ZHANG ZF, ZHANG JC, HUANG YQ, XU GP, ZHANG DN, YU YC. Effects of mycorrhizal fungi on the drought tolerance of *Cyclobalanopsis glauca* seedlings[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(11): 3402-3410 (in Chinese).
- [48] 陈建妙, 刘楚瑜, 陈城, 吴楚. 外生菌根真菌彩色豆马勃与麻栎幼苗共生对其抗旱性的影响[J]. *中南林业科技大学学报*, 2023, 43(5): 36-48.  
CHEN JM, LIU CY, CHEN C, WU C. Effects of *Pisolithus tinctorius* colonization on the drought tolerance of *Quercus acutissima* seedlings[J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2023, 43(5): 36-48 (in Chinese).
- [49] LI M, WANG HY, ZHAO XZ, FENG WY, DING GJ, QUAN WX. Effect of ectomycorrhizal fungi on the drought resistance of *Pinus massoniana* seedlings[J]. *Journal of Fungi*, 2023, 9(4): 471.
- [50] ZHANG L, DONG DH, WANG JF, WANG ZR, ZHANG JJ, BAI RY, WANG XW, RUBIO WILHELMI MDM, BLUMWALD E, ZHANG N, GUO YD. A zinc finger protein SISZP1 protects SISTOP1 from SIRAE1-mediated degradation to modulate aluminum resistance[J]. *The New Phytologist*, 2022, 236(1): 165-181.