

不同锌污染水平下丛枝菌根对三叶草生长的影响^①

陶红群 宋勇春 李晓林^② 陆景陵

(中国农业大学资源与环境学院)

摘 要 采用三室隔网培养方法,研究 4 种锌水平条件下接种菌根菌(*Glomus mosseae*)对三叶草生长的影响表明,施锌量对菌根侵染率、植株生长无显著影响;接种菌根菌可使植株地上部磷含量比相应的对照增加近 1 倍,地下部增加 2 倍多;随施锌量提高,接种使地上部锌含量呈下降的趋势,而地下部逐渐增加。

关键词 丛枝菌根; 锌; 植物生长

分类号 S131.2

Effect of Arbuscular Mycorrhizal Infection on Growth of Red Clover at Different Levels of Zn Pollution

Tao Hongqun Song Yongchun Li Xiaolin Lu Jingling

(College of Resources & Environment, CAU)

Abstract An investigation was carried out to test the effect of arbuscular mycorrhizal infection on the growth of red clover at four Zn levels (0, 50, 100, 300 mg·kg⁻¹). The plants grew in pots with sandy soil separated into three compartments by 30 μm nylon nets, a central compartment for root growth and two outer ones for mycorrhiza hyphal growth. Zn was applied in the central compartment inoculated or uninoculated with AM fungus (*Glomus mosseae*), respectively. The mycorrhizal infection and plant growth were not inhibited at the all four Zn levels used, The phosphorus nutrition of red clover was significantly improved by the mycorrhizal infection. Phosphorus concentration in shoot of mycorrhizal plants was doubled and P in the root of mycorrhizal plants was the 3-folds of that in the non-mycorrhizal plants. Consequently the plant growth was promoted significantly. The results also showed that mycorrhiza decreased Zn in shoot and increased in root with Zn levels.

Key words arbuscular mycorrhiza; Zn; red clover

自然土壤中,丛枝菌根真菌广泛存在。在有效养分缺乏的条件下,它能够通过多种机制促进植物对养分的吸收,尤其是磷、锌和铜^[1~3]。另外,在重金属污染土壤中还能够形成一些抗重金属毒害的菌根^[4,5]。因此,人们对丛枝菌根在重金属高浓度时的解毒作用也进行了一些研究。但是,菌根在重金属污染土壤上对植物生长的影响及抗性效应受到多种因素的制约^[6,7],其中包括土壤中的重金属含量。本研究的目的旨在探索在试验条件下模拟锌污染土壤的锌含量范围,以及接种菌根菌对植物生长的影响。

收稿日期: 1997-05-29

①国家自然科学基金资助项目 39525019,39790100

②李晓林,北京圆明园西路 2 号中国农业大学(西校区),100094

1 材料和方法

1.1 材料

试验装置(图1)用有机玻璃制成。它包括一个中室和两个边室,中室和边室之间用孔径 $30\ \mu\text{m}$ 的尼龙网隔开,以便将根系生长限制在中室,而菌根菌丝可以穿过尼龙网到边室土壤中吸收养分,达到将根系吸收区与菌丝吸收区相区分的目的。

供试土壤为北京大兴县庞各庄乡的砂壤土。有机质 0.39% ;全氮 0.027% 。各种元素质量分数为($w/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$):速效磷 3.9 ,速效钾 60.4 ,有效锌 0.63 ,有效铁 7.6 ,有效铜 0.80 ,有效锰 3.6 , $\text{pH}\ 7.8$ 。土壤过 $1\ \text{mm}$ 筛后在 $120\ \text{C}$ 下高压蒸汽灭菌 $2\ \text{h}$,备用。

供试作物为红三叶草(*Trifolium pratense*)。

供试菌种为*Glomus mosseae*。先用土壤盆栽玉米繁殖,生长2个月后用已受真菌侵染的根段和含有菌丝的根际土壤作为菌根接种剂。

1.2 方法

试验设计 为了模拟不同程度的锌污染状况,中室施锌量为4个水平,即 $0(\text{Zn}_0)$, $50(\text{Zn}_1)$, $100(\text{Zn}_2)$, $300(\text{Zn}_3)\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,锌试剂(ZnSO_4)与土壤混合均匀,每个施锌水平分别设接种丛枝菌根菌(+M)和不接种(-M)对照2组,共8个处理,各处理均重复3次。为保证植物对N、P和K养分的需求,在每盆的各室土壤都施用充足的相应肥料,施肥量分别为N $300\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,P $50\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和K $200\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。肥料品种为硝酸钙、磷酸二氢钙和硫酸钾。

接种菌根菌 $15\ \text{g}$ 接种剂和 $135\ \text{g}$ 土壤完全混匀后装入菌根处理的中室,对照组则加入相同重量的灭菌处理的接种土。边室土壤重量均为 $390\ \text{g}$,土壤装入后各室土壤容重为 $1.3\ \text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ 。

播种 三叶草种子在 $10\%\ \text{H}_2\text{O}_2$ 中浸泡 $10\ \text{min}$ 进行表面消毒,然后放置于湿润的滤纸上使之发芽,每盆播 20 粒,并在土壤表面覆盖一层约 $0.5\ \text{cm}$ 石英砂以减少水分的蒸发。

温度和光照 试验在温室中进行,生长期间温度维持在 $20\sim 25\ \text{C}$,光照时间为 $14\ \text{h}\cdot\text{d}^{-1}$,每天早晨 $7\sim 8$ 时和下午 $5\sim 8$ 时用生物镝灯补充光照,其余时间靠自然光照射。

收获和测定 三叶草生长9周后进行收获,将根系取出、清洗干净后,称取 $1\ \text{g}$ 鲜根用酸性品红染色以方格交叉法测定根系长度和菌根侵染率。根系其余部分和地上部经烘干、磨细后,测定磷、锌含量,采用钒钼黄比色法测定植株体内磷的含量,原子吸收测定植株体内锌。

菌根侵染率的测定 称取 $0.5\ \text{g}$ 用水冲洗干净的鲜根浸入 $10\%\ \text{KOH}$ 溶液中,于 $90\ \text{C}$ 烘箱中放置 $1\ \text{h}$,取出后用自来水冲洗数遍,再用 $2\%\ \text{HCl}$ 浸泡 $10\ \text{min}$,将取出的根段转移到含有 0.05% 的酸性品红乳酸染色液中,在 $70\ \text{C}$ 烘箱中放置 $15\ \text{min}$ 。染色完成后,再将根段用乳酸脱色,采用直线交叉法测定菌根侵染率。

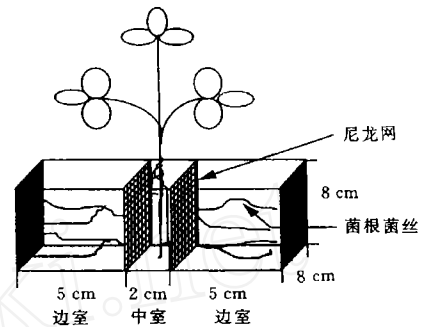


图1 试验装置示意图

2 结果与分析

2.1 菌根侵染率与植株生长

不同施锌水平下三叶草菌根侵染率和植株地上部、地下部干物重列于表 1。在不接种菌根菌的处理中,都未有菌根菌侵染。而对于接种的处理,不论施锌水平高低,根系的菌根侵染率都在 50% 以上,且各锌水平间并无显著差异。这表明锌水平并没有影响菌根菌的侵染。在植物生长方面,对于不同的施锌水平而言,随着施锌量的增加,无论是接种还是不接种的处理,植株地上部和地下部的生长量都没有变化;通过对相同施锌水平不同接种处理的比较可以看出,三叶草形成菌根后植株地上部和地下部的生长量均明显增加,地上部的增加幅度达 70% 以上, Zn_1 水平时最高可达 99%,地下部也能达 30% 以上。此外,不论是接种还是不接种处理,各施锌量间的冠/根比无显著差异(表 1)。然而,接种菌根后,与相同含锌水平处理相比,冠/根比显著提高。说明接种菌根对植株地上部的促进效应更为明显,而施锌量对植株的生长没有影响。

表 1 各种锌水平下接种菌根菌对三叶草生长及养分吸收的影响

处 理	锌 水 平							
	Zn_0		Zn_1		Zn_2		Zn_3	
	-M	+M	-M	+M	-M	+M	-M	+M
菌根侵染率, %	0 c*	59.9 a	0 c	50.4 b	0 c	59.1 ab	0 c	50.5 b
地上部干重/ $g \cdot \text{盆}^{-1}$	1.02 b	1.94 a	0.93 c	1.85 ab	1.03 b	1.87 ab	1.01 b	1.84 ab
根干重/ $g \cdot \text{盆}^{-1}$	0.36 c	0.57 a	0.31 d	0.44 b	0.38 bc	0.50 ab	0.34 cd	0.45 b
冠/根比	2.83 cd	3.40 bc	3.00 c	4.20 a	2.71 d	3.46 bc	2.97 c	3.78 b
地上部含磷量 $w/\%$	0.16 c	0.26 b	0.18 c	0.30 a	0.17 c	0.27 ab	0.16 c	0.27 ab
地下部含磷量 $w/\%$	0.09 c	0.28 a	0.09 c	0.29 a	0.07 c	0.26 b	0.09 c	0.27 ab
地上部吸磷量/ $mg \cdot \text{盆}^{-1}$	1.63 d	5.00 b	1.67 cd	5.55 a	1.75 c	5.05 b	1.62 d	4.97 bc
地下部吸磷量/ $mg \cdot \text{盆}^{-1}$	0.32 d	1.60 a	0.28 de	1.28 bc	0.27 e	1.40 b	0.31 d	1.22 c
吸磷总量/ $mg \cdot \text{盆}^{-1}$	1.96 cd	6.60 ab	1.95 d	6.83 a	2.02 c	6.45 ab	1.93 d	6.19 b
菌根效应(+M/-M)		2.37		2.50		2.19		2.21
地上部锌含量 $w/mg \cdot kg^{-1}$	44.2 g	54.2 f	83.2 e	92.2 d	106.4 c	87.8 de	153.1 a	126.3 b
地下部锌含量 $w/mg \cdot kg^{-1}$	146.9 f	163.3 e	194.2 d	206.1 c	220.2 c	272.2 bc	298.6 b	429.8 a
地下部锌含量/地上部锌含量	3.32	3.01	2.33	2.24	2.07	3.10	1.95	3.40

* 同一行中的不同字母表示在 Duncan 多重比较中达到 5% 显著性差异水平。

2.2 植株的磷营养

随着施锌水平的提高,在不接种的各处理间,无论是地上部还是地下部磷含量都无显著差异。各接种处理间也是相同的趋势。然而,相同含锌水平的情况下,接种菌根菌的植株含磷量都显著高于相应的对照植株,地上部含磷量均增加了将近 1 倍,随不同的锌水平增加幅度为 60%~80%,地下部增加了 2 倍多,但菌根植株地上部和根系中的磷含量间差异不大。表明菌根显著改善了植株的磷营养状况。既增加根系吸收,同时又促进其向地上部转移。

分析不同施锌水平下菌根和非菌根植株吸磷量的结果(表 1)可以看出,由于接种菌根对植株含磷量和植株干物重的双重增加作用,使得相同的施锌水平,接种菌根后,菌根植株地上

部的吸磷量比相应的未接种(对照)增加3倍左右,地下部吸磷量增加了5倍多,总量增加了3~4倍。对于不同的施锌水平,各不接种处理间无论是地上部还是地下部及总量都无变化,显示出菌根在改善磷营养方面的特殊作用。接种处理间除了 Zn_0 水平其地下部含量略有增加外,其他的与不接种的趋势一致。若以菌根处理的吸磷总量与相应对照的数值的增加倍数作为菌根效应,则各锌水平的不同菌根效应变化为2.19~2.50之间。因此,植株对磷的吸收不受锌含量水平的影响,而接种菌根菌有显著促进植株吸收的作用。

2.3 植株的锌含量

三叶草的锌含量随着施锌量的提高,无论是接种还是不接种,植株体内的含锌量都逐渐上升(表1)。而地下部的含量要显著高于地上部,表明锌在根系中的累积量较多。但分析锌在植株体内的分布却发现,随着锌水平的提高,不接种的植株根系中锌含量与地上部的比值逐渐降低,由3.32下降到1.95,而接种的根系中的含量与地上部的比值却逐渐增加,由3.01上升到3.40。接种使得植株地下部锌含量均提高,这表明接种菌根尤其在较高锌含量时有助于锌在根系中的吸持,减少了向地上部的转移。在相同的锌水平下,接种菌根菌的影响表现为,在低水平 Zn_0 和 Zn_1 时,菌根植株地上部锌含量增加;在较高的 Zn_2 和 Zn_3 水平时,菌根植株地上部的含量降低。

3 讨论

高等植物在漫长的进化过程中对环境产生了多种适应机制。菌根的形成即是对自然土壤中有效磷不足的一种适应。在营养元素缺乏的土壤中,菌根真菌与宿主植物根系形成菌根后,可通过多种机制促进植物对这些养分的吸收,尤其是磷、锌和铜,并促进植物生长。在本试验条件下,接种菌根菌后显著改善了植株的磷营养状况,促进了植株的生长;在土壤锌含量低的情况下,菌根促进了植株对锌的吸收,而高浓度时则表现出接种菌根菌后有助于锌在根系中的吸持。本试验中,最高水平锌($300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)并没有对植株的生长产生抑制。

3.1 菌根菌的侵染水平

本试验中,各接种处理的菌根侵染率都在50%以上,具有较高的侵染率(表1)。在施锌量为 $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时对菌根菌的侵染并没有产生影响,说明此时对菌根真菌的活性无影响。此外,土壤中磷的含量也是影响菌根侵染的重要因素。研究发现,缺磷和高磷均会抑制菌根菌的侵染,而低、中等施磷水平促进菌根菌的侵染^[8]。本试验获得相同的结果并表明,在施磷量 $50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时三叶草的侵染率最高。

3.2 磷营养状况

很多试验已表明,丛枝菌根在一定的条件下,尤其是缺磷土壤上能提高宿主植物对磷的吸收,促进多种植物的生长^[9,2,3]。本试验条件下,接种菌根使植株的含磷量比相应的对照增加了1~2倍(表1),每盆磷的吸收量更是显著增加,吸磷总量增加了3~4倍(表1),从而使菌根植株的生物量与相应的对照相比大幅度提高(表1)。

3.3 菌根对植株锌含量的影响

本试验中,在 Zn_0 和 Zn_1 水平时,菌根促进了植株对锌的吸收,地上部和根系中锌的含量都增加。在 Zn_2 和 Zn_3 水平时,菌根使植株根系中锌的含量增加,而地上部锌的含量降低(表1)。其它研究也发现在重金属元素过量时,菌根降低植株地上部该元素的含量,而地下部的含量增加,并促进植物的生长,提高植物的抗性^[11~13]。这种菌根的吸持作用有可能是真菌表面的

吸附、螯合作用。因而菌根菌的侵染起到了在宿主植物对毒害重金属由根系向地上部转移的屏障作用。但是,仍缺乏足够的证据支持这一观点,有待于进一步的研究。

另外,菌根对土壤中重金属元素的吸收受到多种因素的制约。土壤中重金属的有效性是其中的一个。Killham 和 Firestone(1983)研究发现,在酸性含有高浓度的重金属土壤中,菌根促进了植株对重金属元素的吸收,使植株的生物量减少^[10]。本试验的结果却表明在含锌量较高的土壤中,菌根促进了锌在根系中的吸持,抑制了锌向地上部的转移。这可能和土壤 pH 值(7.8)较高,影响到锌的有效性有关。

参 考 文 献

- 1 Cox G, Sanders F E, Tinker P B, et al. Ultrastructural evidence relating to host-plant transfer in a vesicular-arbuscular mycorrhiza. In: Endomycorrhiza F E, Sanders B M, Tinker P B, Eds. Academic Press, London: 1975, 297~312
- 2 Li X L, George E, Marschner H. Phosphorus depletion and pH decrease at the root-soil and hyphae-soil interfaces of VAM white clover fertilized with ammonium. *New Phytol*, 1991, 119: 397~404
- 3 George E, Romheld V, Marschner H. Contribution of mycorrhizal fungi to micronutrient uptake by plants. In: Mantey J A, Crowley D E, Luster D G eds. *Biochemistry of Metal Micronutrients in the Rhizosphere*. Boca Raton, Florida: CRC Press, Inc, 1994, 93~109
- 4 Gildon A, Tinker P B. Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants; I. The effects of heavy metals on the development of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *New Phytol*, 1983, 95: 247~261
- 5 Weissenhorn I, Leyval C. Root colonization of maize by a Cd-sensitive and a Cd-tolerant *Glomus mosseae* and cadmium uptake in sand culture. *Plant Soil*, 1995, 175: 233~238
- 6 Haselwandter K, Leyval C, Sanders F E. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on plant uptake of heavy metals and radionuclides from soil. In: Gianinazzi S, Schuepp H eds. *Impact of arbuscular Mycorrhiza on sustainable Agriculture and natural Ecosystems*. Birkhauser, Basel, Switzerland; 1994, 179~189
- 7 Diaz G, Azcon-Aguilar C, Honrubia M. Influence of arbuscular mycorrhizae on heavy metal (Zn and Pb) uptake and growth of *Lygeum spartum* and *Anthyllis cytisoides*. *Plant Soil*, 1996, 180: 241~249
- 8 李晓林. 施磷水平与 VA 菌根相应的关系. *北京农业大学学报*, 1990, (2): 177~180
- 9 汪洪钢, 吴观以, 李慧荃. VA 菌根对绿豆 (*Phaseolus aureus*) 吸磷和固氮的影响. *土壤学报*, 1983, (2): 203~208
- 10 Killham K, Firestone M K. Vesicular-arbuscular mycorrhizal mediation of grass response to acidic and heavy metal depositions. *Plant Soil*, 1983, 72: 39~48
- 11 Dehn B D, Schuepp H. Influence of VA mycorrhizas on the uptake and distribution of heavy metals in plants. *Agr Ecosystems Environ*, 1989, 29: 79~83
- 12 Dueck T A, Visser P, Ernest W H O, et al. Vesicular-arbuscular mycorrhizas decrease zinc-toxicity grasses in zinc polluted soil. *Soil Biol Biochem*, 1986, 18: 331~333
- 13 El-Kherbawy M, Angle J S, et al. Soil pH, rhizobia and vesicular-mycorrhizas inoculation effects on growth and heavy metal uptake of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Biol Fertil Soils*, 1989, 8: 61~65