

丛枝菌根真菌和根瘤菌对蚕豆吸收磷和氮的促进作用

李淑敏^{1,2} 李隆¹ 张福锁¹

(1. 中国农业大学 资源与环境学院,北京 100094; 2. 东北农业大学 资源与环境学院,哈尔滨 150030)

摘要 以有机磷为磷源,采用盆栽试验研究了接种根瘤菌、AM真菌和双接种对蚕豆(*Vicia faba* L.)吸收磷和氮的影响。双接种和单接AM真菌蚕豆株高、叶绿素含量、根瘤数和根瘤质量显著增加,生物量比对照增加21.5%和20.7%;双接种比单接AM真菌蚕豆根根侵染率提高12.0%;相对于对照,双接种使根际土壤酸性和碱性磷酸酶活性分别由0.69和0.39增加到1.30和0.54 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,磷和氮吸收速率提高50.9%和22.0%,吸收有机磷和氮分别增加63.9%和44.8%,高于单接AM真菌。菌根真菌和固氮微生物双接种对改善作物生长有重要意义。

关键词 AM真菌;根瘤菌;蚕豆;有机磷;氮

中图分类号 Q938.1

文章编号 1007-4333(2004)01-0011-05

文献标识码 A

Enhancing phosphorus and nitrogen uptake of faba bean by inoculating arbuscular mycorrhizal fungus and *Rhizobium leguminosarum*

Li Shumin^{1,2}, Li Long¹, Zhang Fusuo¹

(1. College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2. College of Resources and Environmental Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract The interactions of *Rhizobium leguminosarum* and arbuscular mycorrhiza fungi in association with faba bean (*Vicia faba* L.) was studied with pot experiments. Organic P was used as phosphorus resource. It was found that plant height, chlorophyll content, number and weight of nodules significantly increased due to inoculations. The plant biomass also increased by 21.5% and 20.7% respectively due to inoculating with AM fungus alone and with AM fungus and *Rhizobium leguminosarum* together. Mycorrhizal colonization was enhanced as much as 12% because of rhizobial inoculation. Comparing with the control, inoculating both the fungus and bacterium resulted in increases of acid phosphatase and alkaline phosphatase activities from 0.69, 0.39 to 1.30 and 0.54 $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ in the faba bean rhizosphere. And the plant absorbed 50.9% and 22.0% more phosphorus and nitrogen respectively. The absorbed phosphorus and nitrogen from the supplied organic material increased by 63.9% and 44.8% respectively, also greater than that inoculated with the AM fungus. The results of this study showed some importance of the dual inoculation of AM fungus and diazotrophicus in improving plant growth.

Key words arbuscular mycorrhizal fungus; *Rhizobium leguminosarum*; faba bean; organic P; nitrogen

蚕豆在我国西北各省的分布极广,但其产量较低,尤其在肥力较低的土壤上产量更低^[1]。接种菌根菌可以增加蚕豆对土壤磷、氮营养的有效吸收,从而改善蚕豆的生长发育^[2],根瘤菌能提高蚕豆共生固氮效应^[3]。已有的研究表明,菌根真菌不仅能侵

入根的皮层,也直接侵入根瘤的内部^[4],对提高根瘤固氮所需要的磷素营养十分有利^[5~6],但关于两者双接种对豆科作物磷、氮营养元素的吸收,尤其是土壤有机磷吸收的影响很少报道。

有机磷可占土壤全磷的20%~80%,但很难被

收稿日期:2003-12-15

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30070450);教育部科学研究重点资助项目(0112)

作者简介:李淑敏,博士研究生;李隆,教授,博士生导师,通讯作者,主要从事作物营养生态研究。E-mail: Lilong@cau.edu.cn

作物吸收利用,只有经植物根系、真菌和土壤微生物的磷酸酶水解后才能被植物利用,接种菌根真菌可以增加土壤磷酸酶活性。随着人们对农业持续发展和环境的日益关注,利用丛枝菌根真菌和固氮微生物双接种以减轻农作物对磷肥和氮肥的依赖已成为科学研究的热点^[7]。本试验以有机磷为磷源,通过研究菌根真菌和根瘤菌双接种对蚕豆吸收有机磷和氮素的影响进行观察和试验,以期对 AM 真菌和根瘤菌的双重效应对蚕豆吸收磷、氮的促进作用进行评价。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

试验用土采自中国农业大学昌平长期定位试验未施磷小区,土壤基本理化性状为:pH 7.8,有机质 10.5 g·kg⁻¹,全氮 0.82 g·kg⁻¹,速磷 2.40 mg·kg⁻¹,速钾 80.6 mg·kg⁻¹。土壤过 2 mm 筛,在 120

下蒸汽灭菌 2 h,以杀灭土壤中的真菌孢子;塑料盆装混好肥料的灭菌土 1.3 kg;各处理施 N (NH₄NO₃) 50 mg·kg⁻¹,P 50 mg·kg⁻¹,K (K₂SO₄) 200 mg·kg⁻¹,Mg (MgSO₄·7H₂O) 50 mg·kg⁻¹,Fe, Mn, Cu, 和 Zn 各 5 mg·kg⁻¹,有机磷(植酸钠 Phytate-Na)为磷源,重复 4 次。

1.2 作物及菌种

蚕豆 (*Vicia faba* L. cv. Lincan No. 2); 供试菌根菌种为 *Glomus mosseae* 93 (中国农业大学植物营养系菌根小组提供),根瘤菌为 *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* NM353 (中国农业大学生物学院根瘤菌分类课题组提供)。

1.3 试验处理

试验设 4 个处理,未接种为对照(CK),接种根瘤菌(NM353)、AM 真菌(*G. m.*)及根瘤菌和 AM 真菌双接种(NM353 + *G. m.*)。AM 真菌按 20 mg·kg⁻¹的接种量装盆时铺在土中间,对照组加入相同质量经灭菌处理的接种剂。根瘤菌于蚕豆出苗后接种 10 mL 根瘤菌菌液(根瘤菌数量为 8.2 × 10⁸·mL⁻¹),不接种处理加等量的无菌液体培养基。蚕豆种子经 10% H₂O₂ 消毒催芽后播种,出苗后留 3 株。作物生长其间充分供水,以满足作物对水分的需求,生长 80 d 后收获。

1.4 测定项目和方法

株高和叶绿素含量:生长 55 d 后测量蚕豆株高,用 SPAD-502 型叶绿素仪直接测定叶绿素

SPAD 值。

根瘤数:收获时,将地上部和地下部分开,根系洗净计根瘤数,称根瘤鲜质量。

菌根浸染率:称取 1.0 g 鲜根,按照常规步骤透明、酸化,用曲利苯蓝(Trypan blue)染色,乳酸甘油脱色,然后选取 30 条根段,制片,镜检。根据 Trouvelot^[8]计算各参数、菌根侵染频度、整个根系的菌根侵染强度和丛枝丰度。

根际土壤磷酸酶活性:采用 Tabatabai^[9]方法测定,酶活性单位以单位时间单位质量鲜土水解对硝基苯磷酸二钠生成的对硝基酚来表示(μmol·g⁻¹·h⁻¹)。

根长:采用网格交叉法测定。

植株干质量:105 杀青 30 min,70 烘干至恒重。

植株磷含量按常规方法测定。

有机磷利用率 =

$$\frac{\text{植株吸磷量} - \text{土壤有效磷总量}}{\text{施用量}} \times 100\%$$

$$\text{吸收速率} = \frac{\text{氮、磷吸收量}}{\text{根系干重}}$$

数据统计分析用 SAS 软件完成。

2 结果与讨论

2.1 AM 真菌和根瘤菌对蚕豆生长的影响

生长 55 d 时对各处理蚕豆生长指标的调查结果表明(表 1),单接根瘤菌、AM 真菌和双接种蚕豆的株高明显高于对照,分别比对照增加 16.0%, 20.7%和 21.5%;接种根瘤菌处理蚕豆叶片叶绿素含量与对照之间无显著差异,但接种 AM 真菌和双接种处理叶绿素含量明显高于对照处理,分别增加 5.4%和 10.2%,由于接种 AM 真菌后叶片磷浓度增加导致叶绿素含量升高。地上和地下干质量的变化特点与叶绿素变化趋势一致,接种根瘤菌、AM 真菌和双接种地上干质量分别比对照增加 18.5%, 41.3%和 50.2%,地下干重分别增加 3.1%,19.8%和 16.4%,对总生物量来说,分别比对照增加 39.6%和 34.6%,而根冠比明显低于对照,说明接种后光合产物向地上部分分配增加。由此说明即使在提供有机磷条件下,接种根瘤菌对蚕豆生长也有一定促进作用,但接种 AM 真菌的效果明显好于单接根瘤菌,同时接种根瘤菌和 AM 真菌对蚕豆生长的促进作用最明显,表明两者同时接种对蚕豆生长有一定协同促进作用。

表 1 AM 真菌和根瘤菌对蚕豆生长的影响

Table 1 Effect of AM fungus and *Rhizobium leguminosarum* on the growth of faba bean

处 理	株高/	叶绿素	地上干质量/	地下干质量/	根/冠比/	总生物量/
	cm	SPAD 值/ SPAD	(g 盆 ⁻¹)	(g 盆 ⁻¹)	%	(g 盆 ⁻¹)
CK	47.6 b	39.1 b	6.44 b	2.93 b	0.46 a	9.37 b
NM353	56.7 a	39.4 b	7.63 b	3.02 b	0.40 ab	10.65 b
<i>G. m.</i>	60.0 a	41.2 ab	9.10 a	3.51 a	0.39 ab	12.61 a
<i>G. m.</i> + NM353	60.6 a	43.1 a	9.67 a	3.41 ab	0.35 b	13.08 a
LSD	7.45 *	2.34 *	1.24 *	0.49 *	0.086 *	1.45 *

注: *5%显著水平。同列数值间字母相同差异不显著,不同字母间差异显著。下同。

2.2 AM 真菌和根瘤菌对蚕豆菌根侵染率和根瘤的影响

根系侵染频度表示所含真菌结构的根系占整个根系的比例,其中只要含有一个侵入点的根段即作侵染根段。整个根系的菌根侵染强度,是真菌侵染出现的频度和侵染强度的综合反映,代表了整个根系中 AM 真菌形成的强度;根系丛枝丰度是反映根系中丛枝和泡囊状况。由表 2 可见,未接种 AM 真菌处理均未发现有菌根的侵染各参数均为 0,而接

种植株均有较高的侵染。从根系侵染频度和菌根侵染强度来看,蚕豆接种处理的根系侵染频度在 84.0%~88.0%之间,表明大部分蚕豆根系都有真菌侵染点存在,而这些真菌结构在整个根系中所占的比例平均在 12.9~24.9 之间(侵染强度),在所有受到侵染的根系中丛枝丰度为 4.1%~17.2%,其中双接种处理各指标明显高于单接种,双接种处理根系中丛枝和泡囊结构明显好于单接,说明接种根瘤菌提高了蚕豆的菌根侵染率。

表 2 AM 真菌和根瘤菌对蚕豆菌根侵染率和根瘤的影响

Table 2 Effect of AM fungus and *Rhizobium leguminosarum* on colonization and nodules of faba bean

处 理	菌 根 侵 染 率			根 瘤	
	侵染频度/ %	侵染强度/ %	丛枝丰度/ %	根瘤数/ (个 盆 ⁻¹)	根瘤质量/ (mg 盆 ⁻¹)
CK	0 b	0 c	0 c	8.8 c	11.1 c
NM353	0 b	0 c	0 c	41.0 b	137.5 b
<i>G. m.</i>	84.0 a	12.9 b	4.1 b	98.3 a	347.5 a
<i>G. m.</i> + NM353	88.0 a	24.9 a	17.2 a	104.3 a	362.5 a
LSD	5.97 *	3.82 *	0.95 *	31.55 **	77.3 **

注: **1%显著水平。下同。

接种根瘤菌使蚕豆的根瘤数和根瘤重明显增加,接种 AM 真菌和双接种处理蚕豆的根瘤数和根瘤重分别是单接根瘤处理的 2.40、2.54 和 2.52、2.64 倍,双接种处理根瘤数和根瘤重略高于单接菌根处理,但差异不显著,这说明 AM 真菌后对蚕豆根瘤数及根瘤重的增加有明显的促进作用。由于豆科作物的喜磷特点以及磷对根瘤菌代谢的良好影响,接种 AM 真菌使蚕豆吸磷量增加,对增加根瘤数和根瘤重有较好的作用。

由以上结果说明,接种 AM 真菌和根瘤菌二者具互利和互惠作用:AM 真菌促进植物对磷的吸收,保证了根瘤固氮作用对磷素的需求,提高蚕豆的固氮能力,同时蚕豆固氮可为菌根提供良好的氮素营养,提高植株的菌根侵染率,因此固氮植物菌根对固氮植物优良性状的发挥具有重要的生态学意义。

2.3 AM 真菌和根瘤菌对蚕豆磷吸收的影响

生长 80 d 后测定各处理的植株磷含量。接种 AM 真菌明显提高蚕豆的地上和地下部含磷量(表 3),AM 真菌处理后含磷量分别比对照增加 22.9%和 14.7%;双接种处理分别比对照增加 26.7%和 20.7%;接种根瘤菌处理与对照差异不大。无论地上部、地下部吸磷量还是总吸磷量,接种根瘤菌和对照之间差异不明显,接种 AM 真菌和双接种处理吸磷量明显高于对照,差异均达 1%显著水平。双接种和 AM 真菌的蚕豆吸磷总量比对照增加 76.4%和 63.9%,菌丝对蚕豆吸收有机磷的贡献率分别为 7.8 和 6.5 mg·盆⁻¹。蚕豆对有机磷的利用率从对照的 10.9%增加到双接种处理的 22.9%,由此说明接种 AM 真菌促进了蚕豆对有机磷的吸收,提高了土壤有机磷的利用率。

表3 AM真菌和根瘤菌对蚕豆磷吸收的影响

Table 3 Effect of AM fungus and *Rhizobium leguminosarum* on P uptake by faba bean

处 理	地上部		地下部		吸磷总量/ (mg 盆 ⁻¹)	利用率/ %
	磷质量分数/ (g · kg ⁻¹)	吸磷量/ (mg 盆 ⁻¹)	磷质量分数/ (g · kg ⁻¹)	吸磷量/ (mg 盆 ⁻¹)		
CK	1.05 b	6.8 b	1.16 b	3.4 b	10.2 b	10.9
NM353	1.01 b	7.7 b	1.16 b	3.5 b	11.2 b	12.5
<i>G. m.</i>	1.29 a	11.8 a	1.33 a	4.9 a	16.7 a	20.9
<i>G. m.</i> + NM353	1.33 a	12.8 a	1.40 a	5.1 a	18.0 a	22.9
LSD	0.112 *	2.4 **	0.14 *	3.25 **	3.2 **	

2.4 AM真菌和根瘤菌对氮吸收的影响

接种处理对蚕豆体内氮含量和吸氮量的影响见表4。不同接种处理间地上部和根系氮含量差异不显著,在供有机磷条件下,接种根瘤菌对蚕豆吸氮有一定的促进作用,双接种和接种AM真菌处理的地上部和根系吸氮量显著高于单接根瘤菌和不接种对照,双接种虽然提高了菌根的侵染率,但与单AM真菌之间吸氮量差异不显著,接种AM真菌和双接

种后蚕豆吸氮量增加44.8%和43.1%,菌根贡献分别为50.8和48.9 mg 盆⁻¹,这与Hayman等^[10]的研究结果相一致,接种AM真菌后固氮效率从109增加到139 kg · hm⁻²,表明接种AM真菌后由于促进了植株对磷的吸收,从而使植株吸氮量增加。由于本试验以有机磷为磷源,磷的有效性较差,宿主与根瘤菌之间对磷营养的竞争,使双接种根瘤菌的作用不明显。

表4 AM真菌和根瘤菌对蚕豆氮吸收的影响

Table 4 Effect of AM fungi and *Rhizobium leguminosarum* on N uptake by faba bean

处 理	地上部		地下部		吸收总量/ (mg 盆 ⁻¹)	菌丝贡献/ (mg 盆 ⁻¹)
	氮质量分数/ (g · kg ⁻¹)	吸氮量/ (mg 盆 ⁻¹)	氮质量分数/ (g · kg ⁻¹)	吸氮量/ (mg 盆 ⁻¹)		
CK	12.21 a	78.6 b	11.95 a	35.0 b	113.5 b	
NM353	12.00 a	91.4 b	12.43 a	37.5 ab	128.9 b	15.4
<i>G. m.</i>	13.28 a	121.2 a	12.32 a	43.1 a	164.3 a	50.8
<i>G. m.</i> + NM353	12.39 a	119.9 a	12.50 a	42.5 a	162.4 a	48.9
LSD	1.57 *	19.8 *	1.21 *	7.31 *	21.7 *	

2.5 AM真菌和根瘤菌对根际土壤磷酸酶活性和根系的影响

有机磷经磷酸酶水解后才能被作物吸收利用,磷酸酶活性的高低反映作物对有机磷利用的潜力。各处理酸性磷酸酶活性都显著高于碱性磷酸酶,接种AM真菌和双接种处理酸性磷酸酶和碱性磷酸

酶分别是对照的1.90,1.88和1.31,1.38倍,说明接种AM真菌后,蚕豆根系分泌磷酸酶增加,使根际土壤磷酸酶活性增加,提高蚕豆活化有机磷的能力;除此之外接种后,蚕豆根系磷和氮吸收速率分别增加35.7%,50.8%和20.0%,22.1%。接种后蚕豆的根长略有降低。

表5 AM真菌和根瘤菌对根际土壤磷酸酶活性和根系的影响

Table 5 Effect of AM fungi and *Rhizobium leguminosarum* on rhizosphere soil phosphatase activities and root length of faba bean

处 理	磷酸酶活性/($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)		吸收速率/(mg · g ⁻¹)		根长/ (m 盆 ⁻¹)
	酸性磷酸酶	碱性磷酸酶	P	N	
CK	0.69 b	0.39 c	3.50 b	39.0 b	28.1 a
NM353	0.81 b	0.43 bc	3.74 b	42.7 ab	24.2 ab
<i>G. m.</i>	1.31 a	0.51 ab	4.75 a	46.8 a	24.2 ab
<i>G. m.</i> + NM353	1.30 a	0.54 a	5.28 a	47.6 a	20.2 b
LSD	0.30 **	0.091 *	0.88 **	5.09 *	6.4 *

3 讨 论

接种 AM 真菌可明显促进蚕豆生长,提高对土壤有机磷的吸收,这与 Shibata^[11]的研究结果相一致,接种 AM 真菌后促进了花生和木豆对土壤难溶性 Fe-P、Al-P 和植酸钙的吸收。本试验中磷是限制作物生长的主要因素,由于吸收磷增加,蚕豆生物量升高导致吸氮量同时增加。

有机磷须在土壤磷酸酶的作用下水解为无机磷后才可为根系吸收和利用,这是有机磷较难利用的一个原因。本试验表明接种 AM 真菌可提高根际土壤的磷酸酶活性。Tarafdar^[12]认为接种 AM 真菌后三叶草根表 3 mm 范围内磷酸酶活性显著增加,但 Joner^[13]等认为在熏衣草上的试验得出接种菌根真菌降低了酸性磷酸酶活性。本试验表明双接种处理有机磷利用率高于单接 AM 真菌处理。汪洪钢^[4]以离体绿豆根器官为材料研究表明,菌根可直接侵入根瘤内,为根瘤固氮提供磷素营养,同时蚕豆根瘤固氮为菌根提供氮素营养,改善菌根的营养状况。本试验通过土培研究证明了双接种处理提高蚕豆的菌根侵染率,进而使蚕豆吸收有机磷和氮素营养提高,Rahman^[14]的研究也得出同样的结论,因此同时菌根真菌和固氮微生物双接种对改善作物生长有重要意义。

在本试验中观察到,接种 AM 真菌后,蚕豆的根瘤数虽较多,但根瘤质量较小,表明磷还不能满足蚕豆生长的需要,因此作物生长期间应适当供磷。如何调控宿主植物与根瘤菌和菌根真菌之间的共生关系,有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 叶茵. 中国蚕豆学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003. 587p
- [2] 刘柏玉,雷泽同. VA 菌根真菌对蚕豆(*Vicia faba*)的磷、氮营养及其效应[J]. 土壤通报,1991, 22(2): 93~95
- [3] 刁治民. 青海蚕豆根瘤菌共生固氮效应的研究[J]. 微生物学杂志, 2000, 20(3): 20~22
- [4] 汪洪钢,吴观以,李慧荃. VA 菌根真菌与根瘤菌对离体绿豆根器官的侵染[J]. 微生物学通报, 1990, 17(4): 193~195
- [5] 赵淑清,田春杰,何兴元. 固氮植物的菌根研究[J]. 应用生态学报, 2000, 11(2): 306~310
- [6] Fitter A H, Garbaye J. Interaction between mycorrhizal fungi and other soil organisms[J]. Plant and Soil, 1994, 159: 123~132
- [7] Xie Z P, Staehelin C, Vierheilig H. Rhizobial nodulation factors stimulate mycorrhizal colonization of nodulating and nonnodulating soybean[J]. Plant Physiology, 1995, 108: 1519~1525
- [8] Trouvelot A, Kough J L, Gianiazzi-Pearson V. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle[A]. In: Gianiazzi-Pearson V, Gianiazzi S, eds. Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae[C]. Paris: INRA Press, 1986. 217~221
- [9] Tabatabai M A, Bremner J M. Use of γ -nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1969, 1: 301~307
- [10] Hayman D S. Mycorrhiza and crop production[J]. Nature, 1980, 287: 487~488
- [11] Shibata R, Yano K. Phosphorus acquisition from non-labile sources in peanut and pigeonpea with mycorrhizal interaction[J]. Applied Soil Ecology, 2003, 24: 133~141
- [12] Tarafdar T C, Jungk A. Phosphatase activity in the rhizosphere and its relation to the depletion of soil organic phosphorus[J]. Biology and Fertility of Soils, 1987, 5(3): 308~312
- [13] Joner E J, Jakobsen I. Growth and extracellular phosphatase activity of arbuscular mycorrhizal hyphae as influenced by soil organic matter[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1995, 27(6): 1153~1159
- [14] Rahman M K, Parson J W. Effect of inoculation with *Glomus mosseae*, *Azorhizobium caulinodans* and rock phosphate on the growth of and nitrogen and phosphorus accumulation in *Sesbania rostrata*[J]. Biology and Fertility of Soils, 1997, 25: 47~52