

钾对外生菌根真菌的分泌作用及氮、磷、钾含量的影响

袁 玲, 方德华, 汪智慧, 魏兴元, 黄建国

(西南农业大学资源环境学院, 重庆 400716)

摘要:用无钾、低钾、中钾和高钾的液体培养基培养外生菌根真菌 14~21d, 随着钾离子浓度的降低, 外生菌根真菌分泌 H^+ 和草酸的速率提高。由于 H^+ 能取代 2:1 型粘粒矿物晶层和晶格内的钾, 草酸能络合矿物中的 Fe、Al 离子, 促进 Al-O 八面体风化。推测菌根真菌和菌根活化土壤无效钾的能力在低钾时较强, 在高钾时较弱。在外生菌根真菌分泌的 H^+ 中, 草酸电离可能不是它们的主要来源, 而是一些目前尚不知道的有机酸。此外, 液体培养基中的钾离子不同程度地影响外生菌根真菌体内的氮、磷、钾含量, 看来环境中的钾离子供应影响了真菌菌丝对养分的吸收。

关键词:外生菌根真菌; 氮; 磷; 钾

Effects of potassium on the secretion of proton and oxalate by ectomycorrhizal fungi and the concentrations of nitrogen, phosphorus and potassium in their hyphae

YUAN Ling, FANG De-Hua, WANG Zhi-Hui, WEI Xing-Yuan, HUANG Jian-Guo (College of Natural Resource and Environment, Southwest Agric. Univ., Chongqing 400716, China)

Abstract: Ectomycorrhizal fungi were grown in the liquid culture medium for 14 to 21 days. The efflux rates of H^+ and oxalate by the fungi were increased as the concentration of potassium decreased in the medium. Taking into account of potassium replacement in the interlayer of 2:1 clay minerals by H^+ and the weathering of Al-O lattices by oxalate, the higher ability of potassium mobilization by ectomycorrhizal fungi could occur in insufficient potassium systems than that in sufficient ones. Moreover, H^+ in the liquid culture medium at harvest was not mainly from oxalate but from some unknown matters such as organic acids. The concentrations of nitrogen, phosphorus and potassium in the fungi were influenced variedly by the potassium in the culture medium. It suggests that their absorption by the hyphae could be affected by the external supply of potassium.

Key words: ectomycorrhizal fungus; nitrogen; phosphorus and potassium

文章编号: 1000-0933(2001)02-0254-05 中图分类号: Q939.5, S143.3 文献标识码: A

森林一般不施肥, 主要依靠根系或外生菌根从土壤和岩石中吸收养分来满足自己的营养需要。世界上, 森林主要分布于山高坡陡, 土地瘠薄, 有效养分缺乏的土壤。因此, 活化土壤的无效养分对于改善树木营养, 促进生长有重要意义。

外生菌根真菌与树木根系形成菌根之后, 单位重量的根系所吸收的钾高于普通根系^[1]。松树吸收钾的数量也因菌根真菌的感染而增加^[2]。此外, 在有效钾较低的土壤上, 外生菌根真菌可使花旗松吸收钾的数量提高 5 倍。用水、醋酸铵和盐酸连续提取供试土壤表明, 醋酸铵和盐酸提取的钾显著降低, 这说明外生菌

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 3967002)

收稿日期: 1998-11-18 修订日期: 1999-09-24

作者简介: 袁 玲 (1962~), 女, 四川人, 硕士, 副教授。主要从事植物营养研究。

根不仅能吸收土壤中的有效钾,而且还能利用土壤中的某些无效钾^[3]。在培养基中分别加入土壤、蛭石和金云母做为钾源,发现外生菌根真菌能利用非膨胀性 2:1 型矿物的层间钾和晶格钾^[4]。对植物来说,这些钾一般难于被吸收利用^[5]。

目前认为,外生菌根真菌和菌根吸收与活化无效钾的机理是因为它们的外延菌丝的数量多,比表面积大,与土壤广泛接触,益于接触吸收^[1]。但很显然,菌根真菌体内的养分含量也必然会影响到它们吸收和传递养分的过程^[6]。此外,用接触面积大的观点也难于完整地解释它们吸收与活化土壤无效钾的机理。为此,本项试验在液体培养基中加入不同浓度的钾离子,研究了钾对外生菌根真菌的分泌作用和氮、磷、钾含量的影响,旨在探索它们吸收和活化土壤无效钾的可能机理及其影响因素。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

试验选取 Pt 2144、Pt 441、Pt 715、Lb 270 和 Cg Siv 5 种外生菌根真菌为供试菌种。取保存 3~4 月的上述菌株,接种于 Pachlewski 固体培养基上生长 21d 备用。培养基的组成为:0.5g/L 酒石酸铵、1.0g/L 磷酸二氢钾、0.5g/L 硫酸镁、20g/L 葡萄糖、0.1g/L 维生素 B1、20g/L 琼脂和 1mL/L 微量元素混合液(内含 8.45mg H₃BO₃、5mg MnSO₄、6mg FeSO₄、0.625mg CuSO₄、2.77mg ZnCl₂ 和 0.27mg (NH₄)₂MoO₄)。

1.2 试验设计

用 1.1g/L 磷酸二氢钠代替 Pachlewski 液体培养基中的磷酸二氢钾,分别加入 0、0.13g/L、0.65g/L 和 3.15g/L 硫酸钾形成无钾、低钾、中钾和高钾 4 种处理,培养基的 pH 均为 6.00。然后,取 250mL 的三角瓶,加入 20mL 液体培养基,蒸汽灭菌。每瓶接种直径为 6mm 的琼脂菌种 1 个,在 25±1℃ 的条件下培养 14~21d。试验做 3 次,每次设置 5 次重复。

1.3 测定项目与方法

用 Ca(OH)₂ 饱和溶液沉淀培养液中的草酸,离心分离草酸钙后,再用 H₂SO₄ 溶解,KMnO₄ 滴定草酸浓度^[7]。培养液中的 H⁺ 离子浓度用 pH 电位计测定。外生菌根真菌经 H₂SO₄-H₂O₂ 消化后得到消化液,并依次用微量扩散法、钼蓝比色法和火焰光度法测定它们的氮、磷、钾含量^[8]。

2 结果与讨论

2.1 钾对外生菌根真菌生长的影响

培养基中的钾离子浓度显著影响外生菌根真菌的生长速率,但菌株不同,钾对它们的影响略有差异(表 1)。一般而言,在无钾时,外生菌根真菌生长缓慢,供给低钾后生长速率迅速提高;在钾离子达到一定浓度时(中钾处理),菌根真菌的生长速率继续缓慢增加;供应高钾,外生菌根真菌的生长速率则有所降低。由此可见,适量的钾素营养促进外生菌根真菌的生长,但缺乏或过量都会影响它们的生长。

不同菌株的生长速率差别很大。5 种外生菌根真菌在 4 种供钾条件下的平均生长速率(mg dw/d)依次是:Pt 715(4.133)>Cg Siv(2.922)>Pt 2144(1.633)>Lb 270(1.486)>Pt 441(0.428)。值得注意的是,Pt 715、Pt 2144 和 Pt 441 这 3 种菌根真菌感染桉树,前者的生长速率远远超过后两者。故在培养时,Pt 715 的生长启动快,不易感染,培养性状好,易于快速和大规模生产。Pt 2144 和 Pt 441 由澳大利亚科学家分离,被国际上公认为促进桉树生长最好的菌株,并在世界上广泛应用。Pt 715 是 1996 年从四川西昌红壤中分离获得的,促进桉树生长和吸收养分的能力都大于 Pt 2144 和 Pt 441^[9]。因此,在植树造林中,建议推广性能更加优越的 Pt 715。

2.2 钾对外生菌根真菌分泌草酸的影响

钾离子显著影响外生菌根真菌分泌草酸的速率,无钾>低钾>中钾>高钾,高低之间的相差达 1.83~7.40 倍(表 2)。说明无钾和低钾促进草酸分泌,高钾则产生抑制作用。众所周知,草酸的络合能力极强,{Al(C₂O₄)₃}³⁻ 的稳定常数为 2.0×10¹⁶,{Fe(C₂O₄)₃}³⁻ 的稳定常数为 3.9×10¹⁶。所以,草酸能络合 AlO 八面体晶格中的 Al³⁺、Mg²⁺、Fe²⁺ 等离子,使 2:1 型粘粒矿物风化分解,导致钾离子释放^[7]。看来在无钾和低钾条件下,外生菌根真菌分泌较多草酸有益于含钾矿物的风化分解,这可能是外生菌根真菌和外生菌根活化土壤无效钾的机理之一。在有效钾丰富的土壤上,菌根可以吸收利用土壤溶液、粘粒矿物表面、以及膨胀

性 2 : 1 型粘粒矿物晶层中的部分钾离子^[9,10]。如果矿物大量风化,所释放的钾素容易流失,造成浪费。相反,在有效钾缺乏的土壤上,可利用态的钾离子较少,土壤含钾矿物风化,释放钾离子,有益于供应钾素营养^[10]。所以,在无钾和低钾时,菌根真菌分泌草酸促进含钾矿物风化的能力强,有益于改善树木钾素营养;在高钾时这种能力减弱有益于防止土壤钾的流失。

表 1 外生菌根真菌的生长速率(mg dw/d)

Table 1 The growth rates of ectomycorrhizal fungi

处理 Treatments	Pt 715	Pt 2144	Pt 441	Cg siv	Lb 270
无钾 No K ⁺	1. 70f	1. 40f	0. 42gh	0. 76g	0. 96g
低钾 Low K ⁺	4. 78ab	1. 40f	0. 71g	3. 16d	1. 38f
中钾 Middle K ⁺	5. 39a	1. 56f	0. 37h	3. 80c	1. 56f
高钾 High K ⁺	4. 66b	2. 17e	0. 22h	3. 96c	1. 01fg

* 表中有不同字母的数据表示差异显著($P=0.05$) Data in the table followed with different letters are significantly different at $p=0.05$.

表 2 外生菌根真菌分泌草酸的速率($\mu\text{mol/g dw} \cdot \text{d}$)

Table 2 The rate of oxalate efflux by ectomycorrhizal fungi

处理 Treatments	Pt 715	Pt 2144	Pt 441	Cg siv	Lb 270
无钾 No K ⁺	73. 86f	121. 58cde	206. 87a	134. 58cd	148. 79c
低钾 Low K ⁺	39. 34gh	115. 59de	169. 88b	29. 74g	104. 32e
中钾 Middle K ⁺	28. 61h	105. 58e	137. 74cd	23. 62gh	78. 75f
高钾 High K ⁺	29. 29gh	66. 42fg	104. 96e	18. 18h	70. 51f

* 表中有不同字母的数据表示差异显著($P=0.05$) Data in the table followed with different letters are significantly different at $p=0.05$.

不同菌株分泌草酸的速率也不一样,其分泌能力的大小顺序不随培养基中钾离子浓度的变化而改变。它们分泌草酸的平均速率($\mu\text{mol/g} \cdot \text{d}$)为:Pt 441(154. 86)>Pt 2144(102. 29)≥Lb 270(100. 59)>Cg Siv(51. 53)≥Pt 715(42. 78),由此推测 5 种菌根真菌促进含钾矿物风化的能力为:Pt 441>Pt 2144≥Lb 270>Cg Siv≥Pt 715。

2.3 钾对外生菌根真菌分泌 H⁺ 的影响

培养基中的钾离子浓度显著影响外生菌根真菌分泌 H⁺ 的速率,其规律类似于钾对草酸分泌的影响。真菌分泌 H⁺ 的速率无钾>低钾>中钾>高钾,无钾与高钾之间相差 3. 37~17. 36 倍。说明无钾和低钾处理促进氢离子分泌,高钾则产生抑制作用。H⁺ 和 K⁺ 均属一价阳离子,但 H⁺ 的离子半径小于 K⁺,H⁺ 对层间钾具有较强的取代作用^[10]。对植物来说,膨胀性 2 : 1 型粘粒矿物的部分层间钾属于缓效钾,非膨胀性 2 : 1 型粘粒矿物的层间钾则更难被吸收利用^{[11][12]}。看来在无钾和低钾条件下,菌根真菌能分泌较多的 H⁺,可能有益于粘粒矿物层间钾的释放,这可能是外生菌根真菌和外生菌根活化土壤无效钾的机理之二。与菌根真菌分泌草酸的道理相似,无钾和低钾促进真菌分泌 H⁺,而高钾则产生抑制作用的现象有益于层间钾的有效利用。

不同菌株分泌的 H⁺ 速率差异很大,培养基中的钾离子浓度对于真菌分泌 H⁺ 能力的大小顺序无显著影响。它们分泌 H⁺ 的平均速率($\mu\text{mol/g} \cdot \text{d}$)为:Pt 2144(41. 77)>Lb 270(16. 01)≥Pt 715(15. 37)≥Cg Siv(12. 75)>Pt 441(6. 09),推测菌根真菌促进粘粒矿物层间钾释放的能力为:Pt 2144(41. 77)>Lb 270(16. 01)≥Pt 715(15. 37)≥Cg Siv(12. 75)>Pt 441(6. 09)。

2.4 培养液中的 H⁺ 和草酸含量

培养结束时,液体培养基的 pH 从起初的 6. 00 降至 4. 21~5. 18。根据溶液的 pH 值可以计算出溶液中的 H⁺ 总浓度,根据溶液中的草酸浓度及其电离常数($K_{a1}=5. 9 \times 10^{-2}$; $K_{a2}=6. 4 \times 10^{-5}$),可以计算出草酸电离产生的 H⁺(表 4)。以平均数计,溶液中草酸电离产生的 H⁺ 仅占 H⁺ 总浓度的 13. 51%。说明菌根真

菌所分泌的草酸不是溶液 H^+ 的主要来源,而是一些目前尚未知道的有机酸。至于有机酸的种类、数量,尤其是在无钾和低钾条件下, 外生菌根真菌分泌哪些有机酸是一个值得深入研究的课题。有关研究可进一步明确外生菌根真菌及菌根活化土壤无效钾的机理。

表3 外生菌根真菌分泌氢离子的速率($\mu\text{mol/g dw} \cdot \text{d}$)
Table 3 The rate of H^+ efflux by ectomycorrhial fungi

处理 Treatments	Pt 715	Pt 2144	Pt 441	Cg siv	Lb 270
无钾 No K^+	35.35bc	54.84a	13.98de	28.13c	18.57d
低钾 Low K^+	9.57ef	53.87a	5.88fg	13.25de	18.32d
中钾 Middle K^+	10.55de	42.11b	3.02gh	8.00ef	18.21d
高钾 High K^+	6.01f	16.25d	1.47h	1.62h	8.92e

* 表中有不同字母的数据表示差异显著($P=0.05$) Data in the table followed with different letters are significantly different at $p=0.05$

表4 培养结束时,培养基中的草酸、草酸电离产生的 H^+ 和 H^+ 总浓度($\mu\text{mol/L}$)

Table 4 The concentrations of oxalate, H^+ from oxalate and H^+ in culture solutions at fungal harvest

项目 Items		无钾 No K^+	低钾 Low K^+	中钾 Middle K^+	高钾 High K^+
Pt 715	草酸 Oxalate	17.71	27.02	22.63	19.70
	H^+ 草酸 H^+ from oxalate	1.02	1.27	1.16	1.08
	总 H^+ Total H^+	8.21	6.12	8.09	3.95
Pt 2144	草酸 Oxalate	61.61	54.24	55.60	50.14
	H^+ 草酸 H^+ from oxalate	1.94	1.82	1.84	1.73
	总 H^+ Total H^+	20.93	26.30	22.39	12.58
Pt 441	草酸 Oxalate	40.90	54.94	49.54	31.72
	H^+ 草酸 H^+ from oxalate	1.57	1.83	1.73	1.38
	总 H^+ Total H^+	9.46	7.82	7.45	6.57
Cg siv	草酸 Oxalate	33.91	32.44	31.23	25.52
	H^+ 草酸 H^+ from oxalate	1.43	1.40	1.37	1.24
	总 H^+ Total H^+	15.82	14.77	9.52	2.21
Lb 270	草酸 Oxalate	65.60	69.31	59.54	46.93
	H^+ 草酸 H^+ from oxalate	2.01	2.06	1.90	1.69
	总 H^+ Total H^+	15.43	13.82	13.47	9.32

2.5 钾对外生菌根真菌氮、磷、钾含量的影响

外生菌根真菌的氮、磷、钾含量列于表5。外生菌根是树木根系与外生菌根真菌形成的共生体,外延菌丝的功能之一是吸收土壤养分,并将它们传递至根系。菌根真菌体内的养分来自于菌丝的吸收作用,研究真菌体内养分含量有益于了解菌根真菌和菌根对养分吸收。

2.5.1 氮 培养基中的钾离子显著影响菌根真菌的含氮量。Cg siv 和 Lb 270 的含氮量随钾浓度的增加而提高;Pt 2144 和 Pt 441 的含氮量在无钾时最低,低钾次之,中钾最高,高钾时又降低;Pt 715 的含氮量在低、中、高钾时基本相似,但高于无钾。说明适量的钾可以提高菌根真菌的含氮量,促进氮素吸收;过量的钾则降低真菌的含氮量,抑制氮素吸收。在菌根真菌吸收氮素时,不同菌株对钾的敏感点不一样,较高浓度的钾抑制 Cg siv、Pt 715 和 Lb 270 对氮的吸收,但较低浓度的钾则对 Pt 2144 和 Pt 441 产生抑制作用。

2.5.2 磷 培养基中的钾离子浓度对外生菌根真菌的含磷量无显著影响(Pt 715 和 Lb 270 在无钾培养时例外),说明培养基中的钾离子浓度对真菌吸收磷的影响不大。推测在自然条件下,土壤含钾量对外延菌丝吸收磷的过程也无显著影响。

2.5.3 钾 培养基中的钾离子浓度显著影响外生菌根真菌的含钾量。由表 5 可见,各处理菌根真菌含钾量的大小顺序为:无钾<低钾<中钾<高钾(Pt 441 和 Cg siv 稍有例外),即真菌吸收钾的数量随着供钾量的增加而提高。在自然条件下,随着土壤含钾量的提高,外延菌丝吸收钾的数量也可能随之增加。

表 5 外生菌根真菌的氮、磷、钾含量(mg/g·dw)
Table 5 The concentrations of N、P、K in ectomycorrhizal fungi

项目 Items	Pt 715	Pt 2144	Pt 441	Cg siv	Lb 270
氮 Nitrogen					
无钾 No K ⁺	2.24f	0.55g	3.70e	2.97ef	9.13de
低钾 Low K ⁺	20.01c	2.69f	21.94c	16.03cd	30.34b
中钾 Middle K ⁺	19.59c	3.56c	42.66a	14.26d	28.84d
高钾 High K ⁺	20.60c	2.61f	30.85b	18.18c	38.07a
磷 Phosphorus					
无钾 No K ⁺	0.45c	0.33c	0.27c	0.24cd	9.13b
低钾 Low K ⁺	0.17d	0.39c	0.39c	0.13d	30.34a
中钾 Middle K ⁺	0.17d	0.45c	0.34c	0.13d	28.84a
高钾 High K ⁺	0.20d	0.41c	0.24cd	0.12d	27.07a
钾 Potassium					
无钾 No K ⁺	1.23g	1.56g	1.46g	1.34g	1.38g
低钾 Low K ⁺	10.93e	36.63b	23.33cd	5.83f	18.52d
中钾 Middle K ⁺	14.09e	37.34b	27.03c	6.70f	21.38d
高钾 High K ⁺	26.18c	43.18a	22.58d	6.46f	30.25c

* 表示有不同字母的数据表示差异显著($p=0.05$) Data in the table followed with different letters are significantly different at $p=0.05$.

综上所述,在液体培养基中,随着钾离子浓度的降低,外生菌根真菌分泌 H⁺ 和草酸的速率提高。看来外生菌根真菌和菌根活化土壤无效钾的能力可能与钾的供应水平有关,在低钾时较强,在高钾时减小。在外生菌根真菌分泌的 H⁺ 中,草酸电离可能不是它们的主要来源。液体培养基中的钾离子浓度可能影响外生菌根真菌对氮、磷、钾的吸收,进而影响了它们在真菌体内的含量。

参考文献

[1] Harley J L and Smith S E. Mycorrhizal Biomass. Academic Press, London, 1983. 210~230.
[2] Rygielwicz P T and Bledsoe C S. Mycorrhizal effects on potassium fluxes by Northwest coniferous seedlings. *Plant Physiol.* ,1984, **76**: 918~923.
[3] Huang J G and Lapeyrie F. Ability of ectomycorrhizal fungus *Laccaris bicolor* S238N to increase the growth of Douglas Fir seedlings and their phosphorus and potassium uptake. *Pedosphere*, 1996, **6**(3): 217~224.
[4] Yuan L, Fang D H and Huang J. G. Bio-mobilization of Potassium from soils and clay minerals; I. by ectomycorrhizas. *Pedosphere*, 2000, **10**(4): 339~346.
[5] Kong T and Steffens S Z. Bedeutung der baliumverarmung in der rhizosphare und der tominerale fur die freisetzung von nichtaustauschbarem kalium und dessen bestimmungmit HCl. *Z. Pflanzenernahr. Bodenk*, 1987. **152**: 337~343.
[6] Marks G C and Kozlowski T T Ectomycorrhizas. Academic press, New York and London, 1973. 151~205.
[7] Cromack K, Sollins P, Graustein W C, et al. Calcium oxalate accumulation and soil weathering in mats of the hypogeous fungus *Hysterangium crassu*. *Soil Biology and Biochem.* , 1979, **11**: 463~468.
[8] Yuan Ling, Fang Dehua, Sheng Hong and Huang Jianguo. Bio-mobilization of K from soils and clay minerals; II. By ectomycorrhizal roots. 1999.
[9] 南京农学院主编. 土壤农化分析. 北京: 农业出版社, 1980. 106~109, 191~196.
[10] Mengel K and Kirkby E A. Principles of plant Nutrition. International Potash Institute, Bern, Switzerland. 1987. 427~433.
[11] Leyval C and Berthelin J. Weathering of a mica by roots and rhizosheric microorganisms of pine. *Soil Sci. Soc. Am. J.* , 1991, **55**: 1009~1016.
[12] Menge K and Oberbecker K. Determination of available interlayer potassium and its uptake by ryegrass. *Soil Sci. Soc. Am. J.* , 1993, **57**: 761~766.