

外生菌根菌丝桥在板栗幼苗间传递磷的效应

徐 冰¹, 冯 固¹, 潘家荣², 秦 岭³, 李晓林^{1*}

(1. 中国农业大学资源与环境学院植物营养系, 农业部植物营养与养分循环重点实验室, 教育部植物-土壤相互作用重点实验室, 北京 100094; 2. 中国农业科学院原子能研究所, 北京 100094; 3. 北京农学院园艺系, 北京 102206)

摘要:采用³²P 示踪和 4 室根箱方法研究了外生菌根菌丝桥对板栗磷营养和植株间磷素传递作用的效应。给一株板栗幼苗(供体)接种外生菌根真菌美味牛肝菌(*Boletus edulis*)、褐环乳牛肝菌(*Suillus luteus*), 菌根真菌在侵染供体植物以后其根外菌丝继续生长并侵染邻近的另外一株板栗植株(受体)。同位素示踪试验表明, 供体板栗体内的³²P 可通过菌丝桥传递给受体板栗, 受体植株不仅根中³²P 放射性强度高于对照, 而且茎中³²P 强度也显著高于对照。说明外生菌根真菌在不同板栗植株间形成了菌丝桥, 但是菌丝桥传递的磷的数量很有限, 仅占供体植株体内总磷量的 5%~8%。美味牛肝菌和褐环乳牛肝菌侵染供体板栗植株以后, 使植株含磷量、总吸磷量和生物量较对照明显增加。受体板栗幼苗在菌丝桥建立以后其植株含磷量和总吸磷量显著高于对照, 但生物量与对照没有显著差别。

关键词:菌丝桥; 板栗; ³²P; 养分传递

Transferring of phosphorus between chestnut seedlings via ectomycorrhizal hyphal links

XU-Bing, FENG-Gu¹, PAN Jia-Rong², QIN-Ling³, LI XIAO-Lin¹ (1. Department of Plant Nutrition, China Agricultural University; Key Laboratory of Plant Nutrition, MOA; Key Laboratory of Plant-Soil Interactions, MOE, Beijing, 100094, China; 2. Department of Atom energy, China Agricultural College, Beijing 100094, China; 3. Department of Horticulture, Beijing Agricultural College, Beijing 102206, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(4): 765~770.

Abstract: Chestnut is an important cash special olcal product in Beijing which is exported to many foreign countries. The tree were grown along Yanshan mountain where the soil fertility is very poor because the farmer do not apply fertilizer. Therefore ectomycorrhizal fungi may play important role to the growth of the tree. In order to understand the improvement of phosphorus status in plant by inoculating with ectomycorrhizal fungi and the phosphorus transferring between chestnut seedlings via hyphal link, a four compartmented box was developed. Each box was separated into two outer compartments for growth of donor plant and receiver plant, and two central compartments for external mycelium using 30-μm nylon mesh to restrict the roots but allow hyphal penetration. On the bootom of the compartment for donor plant, there was a small hole which were opened six month after transplanting. The root of donor plant

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39970139); 北京市重点基金资助项目(6982009)。

* 通讯作者人 Author for correspondence
感谢东北林业大学孟繁荣教授对研究的大力支持和指导。

收稿日期: 2002-01-14; 修订日期: 2002-05-28

作者简介: XU Bing(1969~), 男, 吉林人, 博士, 主要从事外生菌根真菌生态生理研究。

Foundation item: National Natural Science Foundation of China(No. 39970135) and Beijing Key Project Foundation(No. 6982009)

Received date 万方数据 Accepted date: 2002-05-28

Biography: XU Bing, Ph. D. , Specialized in ectomycorrhiza ecophysiology.

was induced to go out of the box through the hole. Solution contained ^{32}P was supplied to the root, and the donor plant was labeled. One central compartment was filled with clay soil as a barrier to reduced the diffusion of ^{32}P in substrate. All other three compartments were filled with a substrate of mixture of soil, charcoal and river sand in 2 : 1 : 1 (w/w). Donor plant was inoculated with two ectomycorrhizal fungi, *Boletus edulis* and *Suillus luteus*, or non-inoculated (control). The results showed that extraradical mycelium of donor chestnut plant inoculated with *Boletus edulis* and *Suillus luteus* penetrate clay soil and then colonized receiver plant. ^{32}P activity in receive plant colonized by both mycorrhizal fungi was higher than that of in control plant. This indicated that the hyphal links were formed between donor and receiver chestnuts seedlings. The donor plant inoculated *Boletus edulis* and *Suillus luteus* was greater in biomass than non-mycorrhizal plant, while the growth of receiver plant was not significantly affected by the colonization of both fungi. Comparing to non-inoculating treatment, the colonization of the two fungi on donor plant and receiver plant increased their P concentration and P uptake. The hyphal links between two chestnut plants transferred 5 to 8 percent of total phosphorus untaken by donor plant to receiver plant. It is concluded that inoculating of both ectomycorrhizal fungi improved the P untrition of donor plant, the phosphorus absorbed by donor plant can be transferred to receiver plant through the hyphae bridges although the transferring rate was relatively lower.

Key words: ectomycorrhizal fungi; chestnut P transfer hyphal link

文章编号:1000-0933(2003)04-0765-06 中图分类号:S664.2 文献标识码:A

在自然的森林生态系统中,树木根系可被外生菌根真菌侵染。外生菌根真菌侵染宿主植物根系后,一方面向根内形成哈蒂氏网和菌套,另一方面菌丝向外延伸形成致密的菌丝网,甚至形成菌索。由于多数外生菌根真菌对寄主不具有选择专一性,外延菌丝伸展过程中接触到其它可与其共生的寄主植物的根系后也可再度侵染,形成根间的菌丝桥。Finlay 和 Read^[1]采用放射性自显影技术、Newman 等^[2]通过直接观察的方法证实了菌丝桥的存在。菌丝桥的建立使不同植株之间形成了源库关系,使植物间可传递 C、N、P 和水分等物质,从而使受体植物的营养状况得到改善^[3~5]。

燕山板栗是我国著名的特出口产品,具有很高的经济价值。由于燕山板栗多生长在山区,土壤养分含量很低,且没有施肥的习惯,很少人工施肥或甚至不施肥。山区的板栗常因着生位置、株龄不同表现出植株营养状况和生长势很大差别^[6]。从理论上讲,在板栗群落中,不同板栗植株间能够形成菌丝桥。菌丝桥的形成也许可以使光合产物、水分和养分在生长状况不同的植株之间重新分配,使生长状况不同的板栗植株可以通过菌丝桥得到一定程度的补偿。然而迄今为止,菌丝桥在板栗生态群落中所发挥的作用知之甚少。为此,本研究对板栗间菌丝桥传递磷的能力进行了初步的探索,以期探明菌丝桥在板栗林区内养分物质循环的作用提供依据。

1 材料和方法

1.1 试验装置 采用有机玻璃制成四室隔网系统。试验装置见图 1。自左至右标为 A、B、C、D 四室。A 室和 D 室的规格长、宽、高为 5cm×10cm×15cm, B 室为 1cm×10cm×15cm 和 C 室为 2cm×10cm×15cm。A 和 B 室间及 C 和 D 室间用 30μm 的尼龙网隔开, B 室和 C 室间用 1mm 网隔开。植物种在 A 和 D 室中,而菌丝可以穿过尼龙网进入 B 和 C 室,到达 D 室并形成菌丝桥。B 和 C 室的作用在于减少养分的直接扩散。

1.2 供试基质 土壤采自北京怀柔县龙海镇板栗产区。基质为土壤、草炭、砂按体积比(3 : 2 : 1)的混合物。该基质在 120℃下高压蒸汽灭菌 2h。放置数天后基质装入 A、C、D 室。B 室装入灭菌后的粘土(图 1)。

1.3 板栗苗木 砂藏后的种子在 3 月初播于育苗箱种,以蛭石、珍珠岩(1 : 1)混合物为基质,子叶期移入根箱中, A 室和 D 室各根室移入两棵板栗幼苗。

1.4 供试菌种 牛肝菌 *Boletus edulis* (B. e)、褐环乳牛肝菌 *Suillus luteus* (S. l) 系由怀柔板栗产区采集到的子实体分离得到。

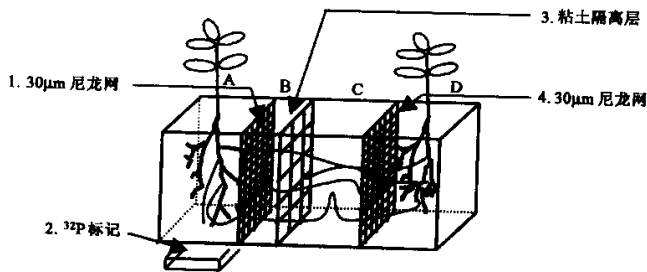


图 1 四室根箱示意图

Fig. 1 Diagram of the four compartment box

1.5 菌根菌剂接种技术 (1)菌根菌剂制备 利用 PDA 培养基平板培养 2 级菌种,然后在草炭、玉米粉(4 : 1)混合的基质上进行 3 级扩大培养,制成菌剂。(2)接种方法 板栗幼苗移入根室生长 1 周后进行接种。仅接种于 A 室(见图 1),在两棵板栗幼苗间打 5cm 的深孔,将 5g 菌剂施入孔中,并覆土。

1.6 试验设计 试验设计分为同位素和非同位素两组。同位素组主要用于测定供体、受体植株体内的³²P,非同位素组用于测定供体、受体植株体内的磷含量、菌根侵染率及生物量。两组试验在相同条件下生长,各组包括接种美味牛肝菌(*Boletus edulis*)、褐环乳牛肝菌(*Suillus luteus*)和不接种(CK)3 处理,每个处理均重复 4 次。板栗生长 6 个月后,待供体植物的根系已下扎,进入 A 室底部盛有水的底盘两周后,用³²P($\text{NaH}_2^{32}\text{PO}_4$)进行标记,用量为 $5.36 \times 10^5 \text{ Bq/盆}$ 。

1.7 收获和测定 标记同位素两周后收获,分别将板栗根、茎、叶烘干、粉碎后取一定量消煮,然后样品用液体闪烁计数器(型号 LKB-1217)测定³²P 放射性强度。非同位素组收获根、茎、叶分别测定干物重。利用徒手切片法制作菌根切片观察菌根结构。用目测法测定菌根侵染率。另外,用钒钼黄法测定板栗根、茎、叶磷的含量。

2 结果与分析

2.1 同位素试验结果

2.1.1 供体植物的生长及体内³²P 的强度 两种菌根真菌侵染板栗后,板栗根、茎、叶干物重较对照都有所增加(表 1)。接种 B.e、S.l 使板栗叶片干重分别增加 2.2 g/盆和 1.45g/盆,根干重增加 1.94g/盆和 1.03g/盆,而且根/冠比同对照相比明显的增加,茎增加不明显。这表明接种对板栗幼苗生长有明显促进作用。但是 S.l 的处理未达到显著水平,表明两菌种间对植物生长的影响存在很大差异。不同处理间供体植株各器官单位干物重³²P 强度及总强度差异明显,但同一处理的不同重复之间变异也很大。其原因可能由于根系空间分布差异太大,下扎到³²P 标记室的根系数量不同,导致³²P 的吸收量的差异。从接种处理与不接种处理比较来看,前者的植株³²P 放射性总强度远大于后者的。

表 1 板栗供体干物重及体内³²P 的强度

Table 1 Dry weight and ³² P radioactivity in mycorrhizal inoculation of donor chestnut plant									
处理 Treatment	干物量 Dry weight (g/Pot)					³² P 的强度 ³² P radioactivity (cpm/mg)			³² P 放射性总强度 ³² Pradioactivity (10 ³ ×cpm/pot)
	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	总重 Total	根/冠 R/(S+L)	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf	
CK	2.17a	5.89a	3.62 a	11.68a	0.23a	654.89	61.54	34.11	9195
B. e	4.11b	6.69a	5.82b	16.68b	0.33b	467.27	130.35	83.06	12346
S. l	3.20ab	4.98a	5.07ab	13.25ab	0.32b	1020.94	487.43	56.24	21555

万方数据

2.1.2 受体植株生长、体内³²P 的强度及³²P 放射性总强度 供体接种 B.e 和 S.l 后受体植株内可检测

到³²P 强度。不仅根中³²P 放射性强度高于对照,而且在茎、叶中³²P 强度也显著高于不接种的处理,同时两菌种间也存在差异(表 2)。这说明³²P 可以通过供体和受体间的菌丝连接,从供体传递到受体。从表 2 还可看出,³²P 放射性总强度 B.e 和 S.l 处理分别增加 442.60×10^3 cpm/盆和 279.39×10^3 cpm/盆,达到显著性水平。接种处理对受体板栗根、茎、叶干物重没有显著的影响。

表 2 板栗受体干物重及体内³²P 的强度

Table 2 Dry weight and ³² P radioactivity in mycorrhizalinoculation of receiver chestnut plant									
处理 Treatment	干 物 量 Dry weight (g/Pot)					³² P 的强度 ³² P radioactivity (cpm/mg)			³² P 放射性总强度 ³² Pradioactivity (10 ³ ×cpm/pot)
	根	茎	叶	总重	根/冠	根	茎	叶	
	Root	Stem	Leaf	Total	R/(S+L)	Root	Stem	Leaf	
CK	2.67a	5.33a	2.26a	10.25a	0.35a	5.50a	3.24a	1.15a	105.26a
B.e	3.38a	6.74a	4.17a	14.28a	0.31a	20.17b	14.22c	4.01b	547.86b
S.l	4.25a	5.58a	2.59a	12.42a	0.52a	16.2b	11.92b	3.06ab	384.65b

2.1.3 受体、供体³²P 吸收量及传递率 表 3 表明供体各处理从标记液中吸收的磷虽然差异很大,但差异不显著。这种差异可能是由于根系下扎到³²P 标记室数量的差异及根系吸收能力不同造成的。受体接种处理磷的转移量明显高于对照,这说明供体从标记液中吸收磷可以通过的菌丝连接传递到受体。受体接种处理中磷传递率同对照比,差异显著。但是,供体从标记液中吸收磷通过菌丝桥传递到受体植株体内磷的量相当小,如此小的转移量不足以影响受体植物的生长。

表 3 供体和受体吸磷总量及磷的传递率

Table 3 P uptake and ³² P transfer rate of donor and receiver plant					
处理 Treatment	供 体 Donor		受 体 Receiver		传递率* Transfer rate (%)
	吸磷总量	标记液中吸磷量	吸磷总量	标记液中转移磷量	
	P content	P uptake	P content	P tranfer	
	(mg/pot)	(mg/pot)	(mg/pot)	(μg/pot)	
CK	11.37a	0.22a	8.51a	3 a	1.7 a
B.e	21.35b	0.29a	18.84b	13 b	8.4 b
S.l	14.19b	0.51a	11.71a	9 b	5.5 b

* 传递率(%)=(标记液中转移到受体植物的磷)/(供体植物从标记液中吸收的磷+标记液中转移到受体植物的磷)×100,下同

2.2 非同位素试验结果

2.2.1 板栗菌根外部形态特征及解剖结构 对板栗幼苗根系进行观察证实,供体和受体板栗幼嫩的营养根系均具有典型的外生菌根结构。结果表明,B.e 的侵染率比 S.l 高(表 4)。供体板栗接种菌根真菌后,不仅供体本身被侵染,而且菌丝能够穿过隔离层侵染其它板栗幼苗形成了菌丝桥,但受体板栗的侵染率明显低于供体。在实体显微镜下观察到接种 B.e 的处理不仅侵染率高,而且也具有较高的侵染强度。

2.2.2 供体植物的生长及体内磷营养状况 表 5 所列数据为供体板栗根、茎、叶干物重及体内磷营养状况。从表 5 中可以看出供体接种后,板栗根、茎、叶干物重都有所增加,但未达到显著性水平。接种菌根真菌处理的板栗幼苗的根、茎、叶中的磷含量均显著高于不接种处理。接种 B.e、S.l 的幼苗其磷含量比对照根增加 98.6%和 90.5%,茎增加 94%和 70.2%,叶增加 77.7%和 73.4%。从中可以看出根中磷的增加量最多。由于植物磷含量和生物量的增加,板栗的总吸磷量显著地得到菌根真菌的促进。这种促进作用的程度在两接种处理间存在显著差异。接种 B.e 的吸磷量比 S.l 高 5.4 倍,为 26.5 mg/盆。

2.2.3 受体植株生长、体内磷营养状况 受体板栗

表 4 供体和受体板栗根系幼苗侵染率

Table 4 Mycorrhizal colonization rate in root of donor and receiver chestnut plant		
处理 Treatment	菌根侵染率	
	Mycorrhizal colonization rate(%)	
	供体 Donor	受体 Receiver
CK	0	0
B.e	57.2	34.8
S.l	45.4	29.2

菌根侵染根、茎、叶干物重同对照比未达到显著水平(表 6),但是接种菌根真菌的受体板栗根、茎、叶中磷的含量较对照明显增加,并达到显著水平。B.e 和 S.l 较对照根增加 50%和 24%,茎增加 50%和 34%,叶增加 43%和 28%,明显促进了磷的吸收。吸磷总量分别增加 5.57 和 2.42 mg/盆,并达到显著水平。

表 5 板栗供体干物重及体内磷的含量

处理 Treatment	干物量 Dry weight (g/Pot)					磷含量 P content (mg/g)			总吸磷量 P uptake (mg/pot)
	根	茎	叶	总重	根/冠	根	茎	叶	
	Root	Stem	Leaf	Total	R/(S+L)	Root	Stem	Leaf	
CK	3.25a	3.92a	2.06a	9.22a	0.54a	0.74a	0.57a	0.94a	6.61a
B.e	6.12a	5.21a	2.71a	14.04a	0.77a	1.47b	1.11b	1.67b	19.24c
S.l	3.3a	3.43a	2.73a	9.45a	0.53a	1.41b	0.97b	1.63b	12.58b

表 6 板栗受体干物重及体内磷的含量

处理 Treatment	干物量 Dry weight (g/Pot)					磷含量 P content (mg/g)			总吸磷量 P uptake (mg/pot)
	根	茎	叶	总重	根/冠	根	茎	叶	
	Root	Stem	Leaf	Total	R/(S+L)	Root	Stem	Leaf	
CK	4.8a	6.11a	3.14a	14.05a	0.52a	0.69a	0.63a	0.81a	10.01a
B.e	5.37a	5.92a	3.58a	14.87a	0.57a	1.04b	0.95b	1.16b	15.58b
S.l	3.79a	5.22a	3.41a	12.42a	0.44a	0.86b	0.83b	1.04ab	12.43b

3 讨论

在自然森林生态系统中,植物根间物质交流可通过 5 种途径实现,即:根间菌丝桥传递;根与根接触;供体植物根分泌物或脱落物经土壤扩散到达受体植物根表;供体植物根分泌物或脱落物进入土壤后被受体植物根外菌丝吸收和供体植物根内养分经根外菌丝释放到受体植物根的周围,随后扩散到受体植物根表进而被吸收。前人的研究在手段上大都采用简单的根箱以及盆栽与同位素示踪技术相结合的方法^[3,7,8],这些研究方法存在着一个无法阻隔同位素标记物以及根分泌物在土壤中扩散作用的弱点,目前国际上还没有同时排除几种途径的理想方法。本研究在五室分隔系统的基础上^[10],采用了设置粘土隔离层以减少供体植物根分泌物和标记物在土壤中扩散的改进方法。试验结果表明,接种不同菌根真菌后,在受体植物根系形成了菌根共生体,并且受体植物体内³²P 放射性强度明显高于对照,这说明本试验中供体植物与受体植物之间建立了外生菌根真菌的菌丝桥,而且供体植物体内的³²P 通过菌丝桥传递到了受体植物。然而,从对照处理受体板栗也检测到微量的³²P,可能是由于少量³²P 穿过隔离层,而进入受体植物生长室内备受体植物直接吸收。菌丝桥的研究方法还有待于进一步改进。

菌丝桥传递养分的数量受菌丝桥及植物不同状况(光合速率、养分状况、固氮能力)等因素的影响。Miller and Allen^[10]认为菌丝桥的形成状况影响传递数量,不同外生菌根真菌形成菌丝桥传递养分数量必然有很大的差异。本试验发现美味牛肝菌、褐环乳牛肝菌形成菌丝桥传递³²P 存在很大差异,美味牛肝菌的传递率明显高于褐环乳牛肝菌。

尽管植物间通过菌丝桥运输养分的能力已经被证明,但它的生态意义一直被某些人所怀疑。争论中心问题是菌丝桥运输养分的数量是否能影响植物的生长^[5,10,11]。许多试验证明,菌丝桥运输³²P 的量相当少。Newman and Eason^[4]证明 *Lolium perenne* 间菌丝桥运输³²P 的数量不足以影响其营养状况。Eissenstat^[12]同样认为菌丝桥在植株间氮传递中的作用可能比磷更大。当考虑到菌根共生体中物质的复杂转移过程时,有不同的结果和不同的看法不足为奇。本试验的结果表明通过菌丝桥传递给受体的³²P,对受体生长没有显著影响。究其原因可能是由于菌丝桥传递的磷只占其体内吸磷量的很少部分(表 3),不足以引起受体板栗生长的显著变化。本试验菌丝桥传递给受体的³²P 仅占供体吸收的 8.42%和 5.52%。

在本试验中,虽然接种菌根后板栗体内磷的含量均显著增加,但是生物量没有显著的增加。这和过去的某些研究不一致^[13]。事实上,植物接种菌根真菌后,其生物量变化不大甚至降低生物量也有过许多报道^[14]。这可能与不同菌种和植物间形成共生体,其碳的分配及调控过程差异造成的。供体和受体间形成菌丝桥后,受体中磷含量的增加主要有两个原因:一是通过菌丝桥从供体传递到受体的养分。二是受体板栗被侵染后,其外延菌丝从受体根室基质中吸收的养分。

References :

[1] Finlay R D and Read D J. The structure and function of vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. I. Translocation of ¹⁴C-labelled carbon between plants interconnected by a common mycelium. *New Phytologist*, 1986, **103**:143~156.

[2] Newmam E I, Devoy C L N, Easen N J, *et al.* Plant species that can be linked by VA mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 1994, **126**:691~694.

[3] Ekbländ A and Huss-Danell K. Nitrogen fixation by *Alnus incana* and nitrogen transfer from *A. incana* to *Pinus sylvestris* influenced by macronutrients and ectomycorrhiza. *New Phytologist*, 1995, **131**: 453~459.

[4] Newmam E I, Easen W R. Rates of phosphorus transfer within and between ryegrass (*Lolium perenne*) Plants. *Functional Ecology*, 1993, **7**:242~248.

[5] Wu B Y, Nara K and Hogetsu T. Can C-14-labelled photosynthetic products move between *Pinus densiflora* seedlings linked by ectomycorrhizal mycelia? *New Phytologist*, 2001, **149**(1):137~1476.

[6] Yuan Y, Du G H. Changes of some main nutritional substances during the development course of empty-shell chestnut. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 1997, **15**(3): 243~249

[7] Chiariello N, Hickman J C and Mooney H A. Endomycorrhizal role for interspecific transfer of phosphorus in a community of annual plants. *Science*, 1982, **217**:941~943.

[8] Simard S W, Perry D A and Jones M D. Net transfer of carbon between ectomycorrhizal tree species in the field. *Nature*, 1997, **388**:579~582.

[9] Ai W D, Zhang J L, Li L, *et al.* P transferring from clover to ray grass via hyphae link. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1999, **10**(5):615~618.

[10] Miller S L, Allen E B. Mycorrhizas nutrient translocation, and interactions between plants. In: Allen MF, ed. *Mycorrhizal Functioning: an Integrative Plant-fungal Process*. New York: Chapman and Hall, 1992. 301~332.

[11] Newmam E I. Mycorrhizal links between plants: their functioning and ecological significance. *Advances in Ecological Research*, 1988, **18**:243~270.

[12] Eissenstat D M. A comparison of phosphorus and nitrogen transfer between plants of different phosphorus status. *Oecologia*, 1990, **82**:342~347.

[13] Branzanti M B, Rocca E and Pisi A. Effect of ectomycorrhizal fungi on chestnut ink disease. *Mycorrhiza*, 1999, **9**:102~109.

[14] Colpaert J V, Tichelen K K, Assche J A, *et al.* Short-term phosphorus uptake rates in mycorrhizal and non-mycorrhizal roots of intact *Pinus sylvestris* seedlings. *New Phytologist*, 1999, **143**:593~597.

参考文献:

[6] 袁艺, 杜国华. 空蓬板栗生育期营养物质的变化. 武汉植物学研究, 1997, **15**(3): 243~249.

[9] 艾为党, 张俊伶, 李隆, 等. 三叶草体内磷通过菌丝桥向黑麦草的传递研究. 应用生态学报, 1999, **10**(5):615~618.