

铝对外生菌根真菌草酸分泌及磷、钾、铝吸收的影响

辜夕容, 黄建国*

(西南大学资源环境学院, 重庆 400716)

摘要: 试验研究了在铝胁迫条件下, 6 种(株) 外生菌根真菌 (ECMF) 的生长、草酸分泌, 以及磷、钾、铝的吸收状况。结果表明, 铝对抗(耐) 型菌种 *Pt* 715、*Hr* Sp、*Cg* SIV 的生长无抑制作用, 但显著抑制敏感型菌株 *Lb* S238N、*Lb* S238A 和 *Lb* 270 的生长, 说明 ECMF 对铝胁迫的生长反应可能是筛选抗(耐) 铝的指标之一。在铝胁迫条件下, 无论是抗(耐) 型还是敏感型菌种(株), 都会发生一系列有益于抗(耐) 铝的生化反应, 包括草酸分泌量、菌丝磷和钾含量增加, H^+ 分泌改变等。在培养液中, 草酸电离产生的 H^+ 仅占 H^+ 总浓度的少数, 说明溶液中 H^+ 的主要来源不是 ECMF 所分泌的草酸, 而是菌丝细胞为保持吸收阳离子的电荷平衡排出的 H^+ 或分泌的其它有机酸。

关键词: 外生菌根真菌; 铝; 磷; 钾; 草酸

Effect of aluminum on growth, oxalate exudation, and uptake of aluminum, phosphorus and potassium by ectomycorrhizal fungi *in vitro*

GU Xirong, HUANG Jianguo*

College of Natural Resource and Environment, Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract: Six ectomycorrhizal fungi (ECMF) were grown in liquid Pachlewski culture medium added with and without Al to study their growth, oxalate exudation, and uptake of aluminum, phosphorus and potassium. Al stress showed no growth inhibition for Al-resistant fungi, *Pisolithus tinctorius* 715, *Cenococcum geophilum* SIV and *Hebeloma repandum* Sp, in contrast to Al-sensitive ones, *Laccaria bicolor* S238A, *L. bicolor* S238N and *L. bicolor* 270, which behaved otherwise in same case. ECMF used in the present experiment were positively responsible to Al stress via changes in proton efflux and increase in oxalate exudation and concentrations of phosphorus, potassium and aluminum in hyphae, whereby could improve the ability of Al resistance. Protons ionized from oxalate accounted for only small amount of protons released by fungi into liquid culture medium, suggesting the proton efflux due to cation absorption by hyphae for charge balance and the ionization of some other organic acids produced by ECMF.

Key Words: ectomycorrhizal fungus (ECMF); aluminum; phosphorus; potassium; oxalate

自 1979 年开始的降雨监测资料表明, 我国南方各地的酸雨十分普遍, 给林业生产造成了巨大损失, 仅 2006 年我国西南地区损失木材就达 630 万 m^3 , 直接经济损失 32 亿元^[1], 间接损失更是无法估计。大量研究表明, 酸雨地区的森林衰亡与酸化土壤中的活性铝含量增加密切相关^[2]。此外, 近年来林木施用生理酸性肥料(如氨态氮肥、过磷酸钙等)也在一定程度上加剧了我国南方林区的土壤酸化和铝害^[3]。如何减轻铝毒, 保持森林健康生长, 已成为亟待人们解决的科学问题。

某些外生菌根真菌 (ECMF) 与树木根系形成菌根之后, 显著提高寄主植物抗(耐) 铝毒的能力^[4]。在活性铝含量很高的酸性土壤中, 接种 ECMF *Pisolithus tinctorius* 可以提高 *Eucalyptus tereticornis* 幼苗的存活率, 其原

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划资助项目(2006BA003A13-3-2); 重庆市科委自然科学基金计划资助项目(CSTC, 2008BB1100)

收稿日期: 2008-10-28; **修订日期:** 2009-03-12

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: huang99@swu.edu.cn

因是菌根活化了根际土壤中的难溶性磷酸盐,沉淀游离状态的铝,减少了铝的吸收^[5]。Morton^[6]以 *Acaulospora* 的 3 个株系 *A. dilatata*、*A. lacunosa*、*A. rogosa* 为材料,接种寄主植物,发现它们可以分泌大量某些特殊的有机物质,与铝形成配位化合物或改变根际 pH 和 Eh,降低铝活性,缓解铝毒性。还有研究表明,植物根系分泌有机酸是它们降低铝毒的重要生理过程^[7],菌根植物抗铝毒能力的增强是因为有机酸分泌量增加^[8-9]。然而,也有研究发现,离体培养的 ECMF 有机酸分泌与其抗(耐)铝的能力无关^[10]。此外,ECMF 感染寄主植物之后,可以改善它们的营养状况,增加磷、钾、钙、镁等元素的吸收,抑制铝的吸收,从而提高其抗(耐)铝的能力^[9]。在铝胁迫条件下,研究 ECMF 的生理生化反应有益于弄清菌根植物抗(耐)铝的机理^[10]。为此,试验在液体培养基中设置不同的铝浓度,研究了 ECMF 的生长和草酸分泌,以及磷、钾、铝的吸收状况,旨在探索它们抗(耐)铝的生理和生化基础及有关机理。

1 材料和方法

1.1 供试菌株

试验选取国内外已有较多研究基础,在抗(耐)铝方面具有代表性的 ECMF 彩色豆马勃 *Pisolithus tinctorius* strain 715 (*Pt* 715, 1996 年从四川西昌的桉树林红壤中分离获得),双色蜡蘑 *Laccaria bicolor* strain 270 (*Lb* 270, 从美国北美花旗松森林土壤中分离获得),以及 *Laccaria bicolor* strain S238N 和 S238A (*Lb* S238A 和 *Lb* S238N, 从法国欧洲火炬松森林土壤中分离获得),土生空团菌 *Cenococcum geophilum* strain SIV (*Cg* SIV, 从西班牙欧洲火炬松森林土壤中分离获得)和线波粘滑菇 *Hebeloma repandum* (*Hr* Sp, 从新西兰辐射松森林土壤中分离获得)等为供试菌株。

取保存的上述菌株,接种于 Pachlewski 固体培养基上培养 21d 备用。培养基组成为(g/L):酒石酸铵 0.5,磷酸二氢钾 1.0,硫酸镁 0.5,葡萄糖 20,维生素 B₁ 0.1×10^{-3} ,琼脂 20 及 1ml/L 微量元素混合液(每升混合液内含 8.45mg 硼酸、5 mg 硫酸锰、6 mg 硫酸亚铁、0.625 mg 硫酸铜、2.27mg 氯化锌和 0.27 mg 钼酸铵)。pH 值为 5.5。

1.2 试验设计

首先,将 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ 加入 Pachlewski 液体培养基(pH3.8),形成 Al^{3+} 浓度分别为 0.0、0.2、1.0mmol/L 的对照、低铝和高铝 3 种处理。然后,分装于 100ml 三角瓶中(25ml/瓶),121℃ 高温高压蒸汽灭菌 20min、冷却,分别接种直径为 3mm 的上述琼脂菌种 2 块, $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 暗培养 21d。试验作 3 次,每处理重复 6 次,取平均值。

1.3 测定项目与方法

培养结束后,用 pH-3C 型精密酸度计测定培养液 pH 值。过滤收集培养获得的菌丝,用去离子水洗净,在 $(80 \pm 2)^\circ\text{C}$ 的烘箱中烘至恒重,称重。然后,用 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 法消化菌丝,分别用钼锑抗比色法、火焰光度计法、铝试剂比色法测定消化液中的磷、钾、铝浓度^[11]。

用过量的氢氧化钙饱和溶液沉淀培养液中的草酸,离心分离草酸钙,用去离子水洗涤草酸钙沉淀 3 次,然后用 3mol/L H_2SO_4 溶液溶解草酸钙沉淀,再用 KMnO_4 滴定溶液中的草酸^[12-13]。

1.4 数据处理

试验数据用 SPSS 11.5 统计软件进行方差分析,用 LSD 法作多重比较,显著水平设置为 $P = 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 铝对 ECMF 生长的影响

在铝胁迫条件下,ECMF 的生长状况是筛选抗(耐)菌种(株)的生理指标之一,抗(耐)型菌种(株)的生长速率变化不大,反之为敏感型^[14]。图 1 可见,铝对 ECMF 生长的影响因菌种(株)不同而异。根据生物量变化,可将它们分为两类:

(1)抗(耐)铝型 铝对它们的生长无显著抑制作用,在低浓度时甚至能促进其生长,包括 *Hr* Sp、*Cg* SIV 和 *Pt* 715。其中,供给低浓度的铝,*Cg* SIV 的生物量比对照增加了 16%;供给高浓度的铝,*Pt* 715 的生物量比

对照提高了 12%; 铝对 *Hr Sp* 的生长无显著影响。

(2) 敏感型 铝不同程度地抑制 ECMF 的生长, 包括双色蜡蘑的 3 个菌株。其中, 高浓度的铝使 *Lb S238A* 的生物量降低 39%, *Lb S238N* 和 *Lb 270* 均降低 20%。

2.2 铝对 ECMF 分泌 H^+ 的影响

铝对 ECMF 分泌 H^+ 的影响也因菌种(株)不同而异(图 2)。根据 H^+ 分泌量的变化, 可将它们分为 3 类: 即铝使 ECMF 的 H^+ 分泌量增加、减少或不变。在铝胁迫下, *Hr Sp* 与 *Cg SIV* 的 H^+ 分泌量显著增加, 高铝使它们 H^+ 分泌量分别比对照增加了 18% (*Hr Sp*) 和 45% (*Cg SIV*)。但是, 铝显著抑制 *Pt 715*、*Lb S238A* 和 *Lb S238N* 的 H^+ 分泌, 高浓度的铝可使 H^+ 分泌量减少 18%—36%。此外, 铝对 *Lb 270* 的 H^+ 分泌无影响。

在铝胁迫条件下, 抗(耐)型菌根真菌分泌 H^+ 有增有减, 敏感型减少或不变。

2.3 铝对 ECMF 草酸分泌的影响

铝显著促进 ECMF 分泌草酸, 铝浓度越高, 草酸分泌量越大, 促进效应同样也因菌种(株)而异(图 3)。在培养液中加入高浓度的铝, 草酸分泌量比对照显著增加, 其增量 *Lb S238A* (131%) (*Cg SIV* (127%) > *Lb 270* (102%) > *Hr Sp* (90%) > *Lb S238N* (17%) (*Pt 715* (13%))。

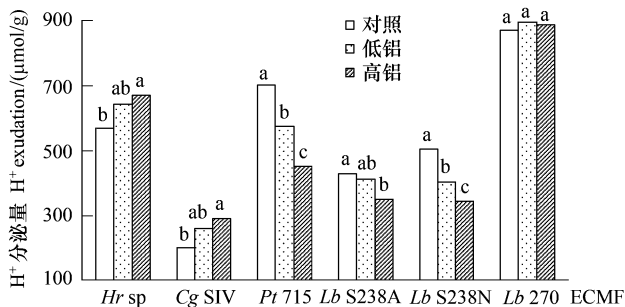


图 2 铝对 ECMF 分泌 H^+ 的影响

Fig. 2 Effect of Al on H^+ exudation by ECMF

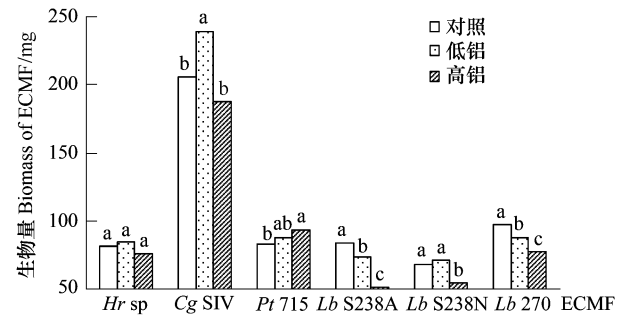


图 1 铝对 ECMF 生长的影响

Fig. 1 Effect of Al on the growth of ECMF

图中不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同

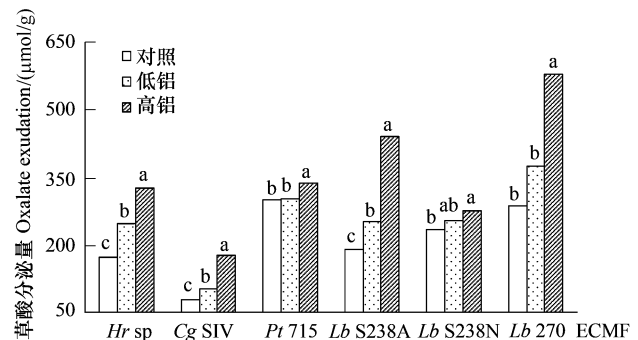


图 3 铝对 ECMF 草酸分泌的影响

Fig. 3 Effect of Al on oxalate exudation by ECMF

ECMF 分泌的草酸可电离成 $C_2O_4^{2-}$ 和 H^+ , 这直接影响到溶液 pH 值^[15]。培养结束时, 根据培养液 pH 值可以计算出溶液中的 H^+ 总浓度; 根据培养液的草酸浓度及电离常数 ($K_{a1} = 5.9 \times 10^{-2}$; $K_{a2} = 6.4 \times 10^{-5}$), 可以计算出草酸电离产生的 H^+ (表 1)。结果表明, 培养液中草酸电离产生的 H^+ 仅占 H^+ 总浓度的 6.47%—21.28%, 平均 9.64%, 说明 ECMF 所分泌的草酸不是溶液中 H^+ 的主要来源。推测培养液中的其他 H^+ 可能来源于菌丝吸收阳离子的同时, 为保持细胞电荷平衡排出的 H^+ , 以及分泌的其它种类有机酸。

此外, 培养液中的铝浓度越高, 草酸分泌量增加, 所电离产生的 H^+ 占总 H^+ 的比例也越高, 高铝处理者比无铝增加了 22%—131%。

2.4 铝对 ECMF 磷、钾、铝含量的影响

培养液中的铝显著影响 ECMF 菌丝磷、钾、铝含量, 但不同菌种(株)的反应各异(表 2)。

磷 低浓度的铝对 ECMF 的含磷量无显著影响。但是, 在培养液中加入高浓度的铝, 除 *Lb 270* 无明显变化之外, 菌丝内磷含量均比对照显著增加。其中, *Hr Sp* 增加最多 (64%), *Lb S238A* 次之 (55%), 随后依次是 *Lb S238N* (45%)、*Cg SIV* (25%) 和 *Pt 715* (12%)。

表 1 培养结束,培养溶液中草酸、草酸电离产生 H^+ 和 H^+ 总浓度
Table 1 Concentrations of oxalate, H^+ from oxalate and H^+ /
(mmol/L) * in culture solutions at fungal harvest

菌种 Fungi	项目 Items	对照 CK	低铝 Low Al	高铝 High Al
<i>Hr Sp</i>	草酸	0.14c	0.21b	0.25a
	草酸离解的 H^+	0.09c	0.11b	0.12a
	总 H^+	1.44b	1.51ab	1.56a
<i>Cg SIV</i>	草酸	0.16c	0.25b	0.33a
	草酸离解的 H^+	0.10c	0.12b	0.14a
	总 H^+	1.43b	1.60ab	1.63a
<i>Pt 715</i>	草酸	0.25b	0.27b	0.32a
	草酸离解的 H^+	0.12c	0.13b	0.14a
	总 H^+	1.76a	1.51b	1.26c
<i>Lb S238A</i>	草酸	0.16c	0.19b	0.23a
	草酸离解的 H^+	0.10c	0.11b	0.12a
	总 H^+	1.08a	0.89b	0.55c
<i>Lb S238N</i>	草酸	0.15b	0.16b	0.18a
	草酸离解的 H^+	0.10b	0.10b	0.11a
	总 H^+	1.03a	0.86b	0.56c
<i>Lb 270</i>	草酸	0.28b	0.33b	0.45a
	草酸离解的 H^+	0.13b	0.14b	0.17a
	总 H^+	2.54a	2.37a	2.07a

表 2 铝对 ECMF 菌丝体内磷、钾、铝含量/(mg/g) * 的影响
Table 2 Effect of Al on concentrations of P, K, and Al in mycelia
of ECMF

菌种 Fungi	项目 Items	对照 CK	低铝 Low Al	高铝 High Al
<i>Hr Sp</i>	P	7.80b	8.87b	12.76a
	K	0.07c	0.15b	0.37a
	Al	0.00c	2.26b	8.57a
<i>Cg SIV</i>	P	2.76b	2.76b	3.46a
	K	1.19c	2.09a	2.50a
	Al	0.00c	0.39b	1.62a
<i>Pt 715</i>	P	12.80b	13.02b	14.30a
	K	3.56b	3.85ab	4.34a
	Al	0.00c	1.06b	3.96a
<i>Lb S238A</i>	P	15.35b	18.95b	23.79a
	K	2.72b	3.09a	3.12a
	Al	0.00c	3.49b	18.36a
<i>Lb S238N</i>	P	14.92b	16.47b	21.61a
	K	0.97b	1.04b	2.85a
	Al	0.00c	3.95b	18.95a
<i>Lb 270</i>	P	9.86a	10.03a	10.09a
	K	7.74a	7.56a	7.75a
	Al	0.00c	1.27b	2.48a

ECMF 的含磷量 $Lb S238A > Lb S238N > Pt 715 > Lb 270 > Hr Sp > Cg SIV$, 高低之间相差近 7 倍。

钾 在培养液中加入铝之后, *Hr Sp*、*Cg SIV*、*Pt 715*、*Lb S238A* 和 *Lb S238N* 的含钾量显著增加, 增幅达到 15%—428%。以 *Hr Sp* 菌丝中钾含量增加幅度最高。但是, 铝对 *Lb 270* 的含钾量无显著影响。

ECMF 的含钾量 $Lb 270 > Pt 715 > Lb 238A > Lb S238N > Cg SIV > Hr Sp$, 高低之间相差达 21 倍。

铝 铝显著提高 ECMF 的含铝量。在对照菌丝体内未能检测到铝的存在; 在低铝处理中, 菌丝平均含铝量为 2.07mg/g; 在高铝处理中, 菌丝平均含铝量高达 8.99mg/g。

ECMF 含铝量 $Lb S238N (Lb S238A > Hr Sp > Pt 715 > Lb 270 > Cg SIV)$ 。高低之间相差近 12 倍。

2.5 ECMF 分泌草酸和 H^+ 与菌丝元素含量的关系

表 3 可见, H^+ 分泌量与菌丝含钾量呈极显著正相关 ($r = 0.502^{**}$, $n = 108$), 说明吸收 K^+ 促进 H^+ 分泌, 应证了“培养液中的其他 H^+ 可能来源于菌丝吸收阳离子的同时, 为保持细胞电荷平衡排出的 H^+ ”的推测。此外, 草酸分泌量与菌丝含铝量 ($r = 0.342^*$, $n = 108$)、含磷量 ($r = 0.406^*$, $n = 108$)、含钾量 ($r = 0.435^*$, $n = 108$) 也呈显著正相关, 说明吸收铝、钾、磷促进了 ECMF 分泌草酸。

3 讨论

生物在逆境条件下的生长状况是指示它们抗逆性的有效指标之一^[16]。Jongbloed 和 Borst-Pauwels^[17] 发现, *Laccarius rufus* 和 *L. hepaticus* 对铝非常敏感, 即使很低浓度的铝 (0.03mmol Al/L) 也会抑制它们的生长, 但 *Laccaria bicolor* 却相当耐铝, 在 0.5mmol Al/L 的培养液中, 生长还有增加的趋势^[10]。本试验表明, 高浓度的铝 (1.0mmol Al/L) 促进 *Pt 715* 生长, 对 *Cg SIV* 和 *Hr Sp* 的生长无显著影响, 说明这 3 种真菌对铝有一定的抗 (耐) 性, 进一步证明了前人和过去的有关研究^[18-19]。但是, 却发现 *Laccaria bicolor* 的 3 个株系对铝敏感, *Cenococcum geophilum* 对铝也很敏感^[20]。出现上述差异的原因之一可能是培养 *Laccaria bicolor* 的铝浓度不

表 3 ECMF 分泌草酸和 H^+ 与菌丝元素含量的相关分析

Table 3 Regression analysis for the efflux of oxalate and H^+ in relation to the contents of elements in ECMF

项目 Items	Al /(mg/g)	P /(mg/g)	K /(mg/g)
$H^+ / (\mu\text{mol/g})$	-0.221	-0.029	0.502 ^{**}
草酸 Oxalate / ($\mu\text{mol/g}$)	0.342 [*]	0.406 [*]	0.435 [*]

* 表示显著相关 ($P=0.05$), ** 表示极显著相关 ($P=0.01$)

同,Cumming 等^[10]所用的铝浓度仅为本试验的一半,未能达到抑制它们生长的浓度;原因之二可能是 *Cenococcum geophilum* 的株系或来源不同,不同株系和不同生态环境中采集的菌株具有不同的生态适应性。供试 *Laccaria bicolor* 3 个株系来源不同(分别从法国欧洲火炬松森林土壤中和美国北美花旗松森林土壤中分离获得),它们对铝胁迫的反应也各异,低浓度的铝促进 *Lb* S238N 的生长,这与 Cumming 等^[10] 研究中 *Laccaria bicolor* 耐铝的结论相似,但抑制 *Lb* S238A 和 *Lb* 270 的生长。因此,有人认为,在筛选优良的 ECMF 时,最好从土著菌株中就地筛选,就地应用^[21]。还需要指出的是,离体培养试验的结果可能与共生状态有所差异,加之田间生态条件也不同于离体培养,故试验获得的上述抗(耐)性菌种(株)还需继续进行田间接种试验。

低分子量有机酸是自然界中普遍存在的物质。在土壤中,植物、真菌和细菌均能释放一些小分子量的有机酸如草酸、乙酸、柠檬酸、苹果酸等,这些有机酸具有重要的生物学和生态学意义^[7, 22]。菌丝体分泌的有机酸是引起溶液 pH 值变化主要来源之一^[15]。但计算表明,ECMF 分泌的草酸不是溶液 H^+ 的主要来源。ECMF 菌丝生长过程中,吸收大量的阳离子,为了保持电荷平衡,菌丝细胞要分泌大量的 H^+ ^[15]。此外,铝胁迫条件下,ECMF 还能分泌其它种类的有机酸^[10]。继续深入研究这些有机酸的种类、数量可能有益于进一步揭示 ECMF 抗(耐)铝的机理。

抗(耐)铝的植物在铝胁迫时,根系能分泌较多的有机酸,络合铝离子,降低它们在根际土壤中的活性,减少铝进入根系,故植物分泌有机酸的数量与它们抗(耐)铝的能力有关^[7, 23-26]。在铝胁迫下,抗(耐)铝菌株 *Pt* 715、*Cg* SIV 和 *Hr* Sp 分泌的 H^+ 有增有减。培养液中的 H^+ 浓度提高,表明 ECMF 释放了大量的有机酸。此外,在培养液中加入铝,某些耐铝的大麦和小麦品种能提高培养液 pH(H^+ 分泌量减少或 OH^- 增加),从而降低铝的活性^[27]。所以,在铝胁迫时,抗(耐)菌种分泌 H^+ 增加和减少都可能有益于提高它们抗(耐)铝的能力,不同菌种(株)抗(耐)铝的机理可能有所不同。

铝胁迫显著促进 ECMF 分泌草酸,与前人的研究结果类似^[28-31]。草酸的络合常数为 12.4^[32],能与铝形成稳定的环状结构,可以有效地与铝离子形成络合物,降低游离铝的浓度,缓解铝毒^[26]。因此,有人认为铝诱导有机酸的特异性分泌是一种重要的耐铝机制^[33],ECMF 的草酸分泌有益于提高其抗(耐)铝性,分泌能力的大小是抗性大小的重要指标^[23-25],在铝胁迫条件下,无论是抗(耐)型还是敏感型 ECMF,它们分泌的草酸数量均增加,看来分泌草酸的生理过程可能不是 ECMF 抗(耐)铝性强弱的指标,这与 Cumming 等^[10] 的研究结论相似。ECMF 分泌草酸的生理过程实际上可视为对铝胁迫的一种自卫性生理反应,但难于作为一种筛选指标。此外,草酸可与土壤中固定磷的铝发生络合反应,释放磷酸根,提高土壤溶液中的磷浓度^[34],促进植物对磷的吸收^[18]。铝对植物的毒害机理之一是铝抑制磷的吸收^[3]。所以,在铝胁迫下供试 ECMF 磷的吸收增加可能有益于提高寄主植物抗(耐)铝的能力^[35]。在培养过程中,随着时间的延长,观察到培养液中的白色沉淀(可能是铝与磷形成的难溶性磷酸盐)逐渐消失,推测 ECMF 分泌的有机酸在 Al-P 沉淀的溶解中起着非常重要的作用,但该推测有待实验证实。

增加培养液中铝浓度,菌根真菌的铝和磷含量均显著提高,二者的相关系数达到 0.765** ($n = 108$),说明菌丝铝和磷互相促进吸收。X-衍射线分析表明,铝以聚磷酸盐形式积累于 *Pisolithus tinctorius* 菌套菌丝液泡和细胞壁内,使铝以无毒形态隔离^[36]。在培养液中加入高浓度的铝,*Lb* S238A、*Lb* S238N 和 *Lb* 270 等 3 株双色蜡蘑菌丝体的铝、磷含量最高,但生物量却比对照显著降低,推测铝在它们的体内不完全以无毒的形式隔离,仍可有少部分铝以活性形态存在,并产生了毒害作用。相反,在抗(耐)性较强的 ECMF *Pt* 715、*Cg* SIV 和 *Hr* Sp 体内,虽然磷、铝含量也随外界铝浓度增加而同步提高,但铝对它们的生长无抑制作用,估计大部分铝在菌丝内可能以无毒的形态存在,以活性形态的铝仅占少量。考虑到铝在植物和菌丝体内难于移动,菌丝体内大量积累铝可能有益于防止铝进入植物根部,减轻对寄主的伤害作用。

高浓度的铝常抑制植物吸收 K^+ ^[37-38]。但是,高浓度的铝提高供试 ECMF 的含钾量,说明促进了它们的钾吸收,推测是因为植物和 ECMF 的生物属性不同,也可能是所添加的铝浓度还不够高。在生物体内,钾是

70 多种酶的活化剂, Al^{3+} 促进钾吸收有益于生物代谢, 缓解铝毒。因此, 在铝胁迫条件下, 菌丝体内的钾浓度增加对于菌根真菌拮抗铝毒有积极意义。

总之, ECMF 抗(耐)铝的能力存在明显的种(株)间差异, 铝胁迫条件下的生长状况是指示它们抗(耐)性强弱的重要指标之一。但无论是抗(耐)型还是敏感型菌种(株), 都会发生一系列有益于抗(耐)铝的生理生化反应, 如磷、钾吸收量和草酸分泌量增加等。其中, 增加草酸分泌可视为对铝胁迫的一种自卫性生理反应。

References:

- [1] Han S Y. "Azrael in the air"-acid rain. Popular Science News, January 28, 2007.
- [2] Brunner I, Frey B. Detection and localization of aluminum and heavy metals in ectomycorrhizal Norway spruce seedlings. Environmental Pollution, 2000, 108: 121-128.
- [3] He L F, Shen Z G, Liu Y L, Wang A Q. Studies on the mechanisms of aluminium toxicity in higher plant. Journal of Guangxi Agricultural and Biological Science, 2002, 21(3): 189-194.
- [4] Hartley J, Cairney J W G, Freestone P, Woods C, Meharg A A. Effects of multiple metal contamination on ectomycorrhizal Scots pine (*Pinus sylvestris*) seedlings. Environmental Pollution, 1999, 106(3): 413-424.
- [5] Bhagyalakshmi J, Sujatha P, Sreenivasulu A, Meru E, Rao P S. Effects of *Pisolithus tinctorius* on growth of *Eucalyptus tereticornis* seedlings in nursery conditions. Indian Forester, 2000, 126(2): 194-196.
- [6] Morton J B. Three new species of Acaulospora (Endogonaceae) from high aluminum, low pH soils in West Virginia. Mycologia, 1986, 78(4): 641-648.
- [7] Li D H, Huang S M, He L Y, Liu W D. The organic acid exudation of plant and its role in aluminum toxicity elimination mechanism from plant roots. Plant Physiology Communications, 2004, 40(4): 505-510.
- [8] Tahara K, Norisada M, Tange T, Yagi H, Kojima K. Ectomycorrhizal association enhances Al tolerance by inducing citrate secretion in *Pinus densiflora*. Soil Science and Plant Nutrition, 2005, 51(3): 397-403.
- [9] Gu X R, Liang G S, Huang J G. Mechanism on increasing plant aluminum resistance by ectomycorrhizae. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2005, 21(9): 218-221.
- [10] Cumming J R, Swiger T D, Kurnik B S, and Panaccione D G. Organic acid exudation by *Laccaria bicolor* and *Pisolithus tinctorius* exposed to aluminum in vitro. Canadian Journal of Forest Research, 2001, 31(4): 703-710.
- [11] China National Institute of Standards Compilation. Determination of total phosphorus, potassium, sodium, magnesium, iron, copper, zinc, manganese, silicon, and aluminium in forest vegetation and forest litter. Beijing: China Standard Press, 1987: 33-34.
- [12] Cromack K, Sollins P, Graustein W C. Calcium oxalate accumulation and soil weathering in mats of the hypogeous fungus *Hysterangium crassu*. Soil Biology and Biochemistry, 1979, 11: 463-468.
- [13] Li L Q, Lin C S, Zhu Y R. Quantitative chemical analysis. Beijing: Chinese Science & Technological Press, 1997: 123: 220 - 221.
- [14] Ray P, Tiwari R, Reddy U G, Adholeya A. Detecting the heavy metal tolerance level in ectomycorrhizal fungi in vitro. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2005, 21(3): 309-315.
- [15] Dinkelaker B, Romheld V, Marschner H. Citric acid excretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin *Lupinus albus* L. Plant, Cell and Environment, 1989, 12: 285-292.
- [16] Guo T R, Zhang G P. Advance in studies on aluminum toxicity and inheritance improvement in barley. Barley Science, 2002, (2): 6-10.
- [17] Jongbloed, R H, Borst-Pauwels G W F H. Effects of aluminium and pH on growth and potassium uptake by three ectomycorrhizal fungi in liquid culture. Plant and Soil, 1992, 140: 157-165.
- [18] Cumming J R, Weinstein L H. Aluminum-mycorrhizal interactions in the physiology of pitch pine seedlings. Plant and Soil, 1990, 125: 7-18.
- [19] Huang J G. and Lapeyrie F. Ability of ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* S238N to increase the growth of Douglas Fir seedlings and their phosphorus and potassium uptake. Pedosphere, 1996, 6(3): 217-224.
- [20] Kasuya M C M, Muchovej R M C, Muchovej J J. Influence of aluminum on *in vitro* formation of *Pinus caribaea* mycorrhizae. Plant and Soil, 1990, 124: 73-77.
- [21] Stamford N P, Silvia R A. Effect of lime and inoculation of *Mimosa caesalpiniaefolia* in acid soil of the forest zone and semiarid region of pernambuco. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 2000, 35(5): 1037-1045.
- [22] Ryan P R, Delhaize R and Randall P J. Malate efflux from root apices and tolerance to aluminum are highly correlated in wheat. Aust Journal Plant

- Physiology, 1995, 122: 531-536.
- [23] Ma J F, Hiradate S, Matsumoto H. High aluminum resistance in buckwheat II: Oxalate acid detoxifies aluminum internally. *Plant Physiology*, 1998, 117: 753-759.
- [24] Ma Z, Miyasaka S C. Oxalate exudation by taro in response to Al. *Plant Physiology*, 1998, 118: 861-865.
- [25] Suhayed C G. Organic acids reduce aluminum toxicity in maize root membranes. *Plant Physiology*, 1986, 68: 189-195.
- [26] Shen A L, Li X Y, Wu S R. The composition characteristics of low-molecular-weight organic acids in soil and their roles on soil material cycling. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 1997, 3(4): 363-371.
- [27] Dong A H, Tong W X, Pan W H, Pan J W, Zhao Z X, Zhu M Y. Study on correlation between Al^{3+} tolerance in barley and plant-induced pH changes of nutrient solution. *Acta Agriculture Shanghai*, 1999, 15(3): 38-41.
- [28] Ahonen J U, Hees P A W, Lundstrom U S, Finlay R D. Organic acids produced by mycorrhizal *Pinus sylvestris* exposed to elevated aluminum and heavy metal concentrations. *New Phytol*, 2000, 146(3): 557-567.
- [29] Wallander H. Use of strontium isotopes and foliar K content to estimate weathering of biotite induced by pine seedlings colonized by ectomycorrhizal fungi from two different soils. *Plant and Soil*, 2000, 222: 215-229.
- [30] Cromack K, Sollins P, Graustein W C. Calcium oxalate accumulation and soil weathering in mats of the hypogeous fungus *Hysterangium crassu*. *Soil Biology and Biochemistry*, 1979, 11: 463-468.
- [31] Griffiths R P, Baham J E, Caldwell B A. Soil solution chemistry of ectomycorrhizal mats in forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26: 331-337.
- [32] Spasio G. Environment chemistry of aluminum. Florida: CRC Press, 1996: 155.
- [33] Lian B H, Jiang Q. Aluminum release and mobilization in five forest soils in southern China affected by simulated acid deposition. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Science)*, 2000, 26(5): 347-351.
- [34] Gerke J. Kinetics of soil phosphate desorption as affected by citric acid. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk*, 1994, 157: 17-22.
- [35] Van Scholl L, Keltjens W G, Hoffland E, van Breemen N. Effect of ectomycorrhizal colonization on the uptake of Ca, Mg and Al by *Pinus sylvestris* under aluminium toxicity. *Forest Ecology and Management*, 2005, 215(1-3): 352-360.
- [36] Schier G A, McQuattie C J. Response of ectomycorrhizal and nonmycorrhizal pitch pine (*Pinus rigida*) seedlings to nutrient supply and aluminum: growth and mineral nutrition. *Canadian Journal of Forest Research*, 1996, 26: 2145-2152.
- [37] Meyer F H. Effect of the nitrogen factor on the mycorrhizal complement of Norway spruce seedlings in humus from a damaged site. *Allgemeine Forest Zeitschrift*, 1985, 9: 208-213, 215-217, 219.
- [38] Shafer S R, Grand L F, Bruck R I, Heagle A S. Formation of ectomycorrhizae on *Pinus taeda* seedlings exposed to simulated acidic rain. *Canadian Journal of Forest Research*, 1985, 15(1): 66-71.

参考文献:

- [1] 韩淑云. “空中死神”——酸雨. 大众科技报, 2007 年 1 月 28 日.
- [3] 何龙飞, 沈振国, 刘友良, 王爱勤. 植物铝毒害机理的研究. 广西农业生物科学, 2002, 21(3): 188-194.
- [7] 李德华, 黄升谋, 贺立源, 刘武. 植物根系有机酸的分泌和解铝毒作用. 植物生理学通讯, 2004, 40(4): 505-510.
- [9] 辜夕容, 梁国仕, 黄建国. 外生菌根提高植物抗铝性机理研究进展. 中国农学通报, 2005, 21(9): 218-221.
- [11] 中国国家标准汇编. 森林植物与森林枯枝落叶层全磷、全钾、全钠、全镁、全铁、全铜、全锌、全锰、全硅、全铝含量测定. 中国标准出版社, 1987: 89: 33-34.
- [13] 李龙泉, 林长山, 朱玉瑞. 定量化学分析. 北京: 中国科学技术出版社, 1997: 123, 220-221.
- [16] 郭天荣, 张国平. 大麦耐铝毒机理及遗传改良研究进展. 大麦科学, 2002, (2): 6-10.
- [26] 沈阿林, 李学垣, 吴受容. 土壤中低分子量有机酸在物质循环中的作用. 植物营养与肥料学报, 1997, 3(4): 363-371.
- [27] 董爱华, 童微星, 潘伟槐, 潘建伟, 赵章杏, 朱睦元. 大麦耐 Al^{3+} 性与诱导培养液 pH 值改变的相关性研究. 上海农业学报, 1999, 15(3): 38-41.
- [33] 廖柏寒, 蒋青. 模拟酸沉降条件下南方森林土壤铝的释放与活化研究. 湖南农业大学学院(自然科学版), 2000, 26(5): 347-351.