

磷素形态对 AM 真菌生长及接种效应的影响

刘文科^{1,2}, 冯 固¹, 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. 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 北京 100081)

摘 要: 采用玻璃珠介质分室培养装置, 研究了磷酸二氢钾、植酸钠和卵磷脂 3 种磷源形态对 BEG167 和 *G. v* 的接种效应及其生长的影响。结果表明, 与施用植酸钠相比, 施用磷酸二氢钾、卵磷脂显著提高了玉米的生长和植株的含磷量, 但施用磷酸二氢钾处理与施用卵磷脂处理在宿主生长上无显著差异。BEG167 与 *G. v* 对植酸钠反应不同, *G. v* 更能有效地利用植酸钠形态的磷, 使宿主的生物量显著高于 BEG167 处理。对同一真菌接种处理而言, 不同形态磷素处理, 植物室有效磷的含量大小顺序为磷酸二氢钾> 卵磷脂> 植酸钠; 同一磷素形态处理, 接种 *G. v* 的玉米对植物室磷素的消耗量显著大于接种 BEG167 的, 表明 *G. v* 在提高宿主利用根际磷能力上显著高于 BEG167。磷素形态对两种真菌的侵染率没有显著影响, 但接种 *G. v* 的侵染率显著高于接种 BEG167 的侵染率。3 种磷源对根外菌丝的生长量没有显著的影响, 但 BEG167 的菌物量显著小于 *G. v*。结果表明, 在 50 mg · kg⁻¹ 的用量下, 共生 8 周时, 两种真菌菌物量表现出显著的菌间差异, 但磷素形态差异未能改变两种真菌的生长量。

关键词: 丛枝菌根真菌; 玉米; 磷素形态; 菌物量; 接种效应

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672 – 2043(2004)05 – 0968 – 04

Effects of Applying Different Forms of Phosphorus on Maize Growth and Inoculation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi for Maize Symbiosis

LIU Wen-ke^{1,2}, FENG Gu¹, 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. Institute of Agricultural Environmental and Sustainable Development Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: The morphology and function of AM fungi are affected by soil conditions, especially P level. In this experiment, the effects of KH₂PO₄, Na – phytate and lecithin application on growth of maize inoculated with BEG167 and *Glomus versiforme* and extraradical fungal biomass were investigated after 8 weeks’ growth using glass bead culture system. The results indicated that KH₂PO₄ and lecithin application significantly increased the shoot dry weight, shoot and root P concentration and P uptake in maize in comparison with Na – phytate application. The shoot dry weight of maize inoculated with *Glomus versiforme* was significant higher than that inoculated BEG167 under the treatments of Na – phytate application. Under the treatments of same AM fungus inoculation, the concentration of available P in plant compartment was in an order: KH₂PO₄> lecithin > Na – phytate. For the treatments of same P application, the available P concentration in plant compartments inoculated with BEG167 was higher than that inoculated with *Glomus versiforme*, which indicated that *Glomus versiforme* could more promote the P root uptake of maize than BEG167. The colonization ratio of root inoculated with two fungi were not significantly affected by the forms of phosphorus, but that inoculated with *Glomus versiforme* was higher than BEG167. Phosphorus forms had no effect on extraradical fungal biomass, while, fungal species did, *Glomus versiforme* had more fungal biomass than BEG167 at 50 mg · kg⁻¹ of phosphorus. Different phosphorus forms applied in plant compartment could not alter the growth strategies of AM fungi at 50 mg · kg⁻¹ of phosphorus when the symbiosis established for eight weeks.

Keywords: arbuscular mycorrhiza fungi; maize; phosphorus forms; fungal biomass; inoculation efficiency

土壤磷素含量多寡和形态能够影响 AM 真菌根外菌丝的生长^[1], 继而影响真菌的共生状态和菌根效应的发挥^[2], 也能调节根外菌丝的生理活性^[3]。然而, 大多数研究结果是以菌丝密度作为衡量菌丝生物量的指标。此指标是指单位土壤质量中菌丝的长度, 并不能直接表明菌物的多少和菌根的碳消耗; 另外, 由于不同菌株间在生物学特征上存在很大的差异, 比如菌丝的直径、产孢能力等, 这使菌丝密度很难准确表示出真菌在土壤中的生物量。因此, 对根外菌丝生物学及其调控的研究的直接结果较少。Chen(2001)^[4]采用 Redecker(1995)^[5] 建立的玻璃珠培养方法研究了无机磷水平差异对菌根真菌菌物生长的影响。而对不同有机磷对菌根真菌生长的影响尚缺乏认识。

众所周知, 土壤中存在大量的有机磷, 约占总磷量的 20% ~ 80%, 有的可高达 95%^[6]。最近有研究结果证实丛枝菌根真菌能够促进植物对土壤中多种形态有机磷的吸收利用^[7]。由于菌根真菌利用土壤有机磷和无机磷的机制不同, 可能对真菌的生长产生各异的反馈, 继而影响真菌的生长。因此, 探明土壤中不同形态的有机磷对 AM 真菌生物量的影响, 对于深入理解 AM 真菌在土壤中的生长与调控有着重要的科学意义。

本试验通过对两种不同的菌根真菌施用植酸钠、磷酸二氢钾和卵磷脂 3 种磷素形态, 研究它们对玉米菌根形成、植物生长和养分吸收的影响, 并考察真菌的生长差异, 了解真菌生长与土壤条件的关系, 旨在为提高菌根共生体的功能、认识菌根功能与土壤生态条件的关系提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 菌根真菌

两个菌根真菌用于试验, 分别为 *Glomus versiforme*(简略为 *G. v.*, 下同) 和 BEG167。 *G. v.*(孢子密度为 52.9 个每克接种剂) 和 BEG167(孢子密度为 9.05 个孢子每克接种剂)。接种剂是以河沙与土壤的混合物作为扩繁基质, 玉米为宿主植物扩繁而成, 是含有宿主植物根段、真菌孢子和根外菌丝的混合物。

1.2 宿主植物

玉米(*Zea mays* L)品种为农大 108。种子用 10% 的过氧化氢浸泡 10 min 进行表面消毒, 放在托盘上在 28 ℃ 的培养箱内催芽, 备播种。

1.3 培养基质

土壤取自昌平农大试验站长期肥料定位试验的

低磷区土壤, 有效磷含量为 $5.21 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 有机质含量为 $12.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 风干、过 1 mm 筛、经灭菌(121 ℃, 2 h)处理后备用。

1.4 试验方案

采用 3 室根箱培养装置, 规格为 $(5 + 2 + 4) \text{ cm} \times 10 \text{ cm} \times 12 \text{ cm}$ 。从 5 cm 边室一侧开始, 分别为菌丝室(装玻璃株珠)、菌根室(石英沙)和植物生长室(土壤)。本试验采用两种真菌、3 种磷源的 2×3 的因素设计, 共 6 个处理, 每个处理重复 4 次。土壤中施入磷素量为 $5050 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 无机磷(P, $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 磷酸二氢钾)、有机磷中植酸钠(P, $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 含磷 23.48%, Phytic acid)和卵磷脂(P, $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 含磷 3.55%, 含氮 1.6%, Lecithin, 上海华东师范大学化工厂, Q/DACX)。基质用量, 土壤为 745 g, 石英砂 330 g, 玻璃珠 1070 g。

植物室种植 4 株玉米, 出苗后留 3 株, 8 周后收获。试验在网室进行, 生长过程中每 4 周加入氮肥(硝酸铵), 每次用量为每千克土壤 100 mg 氮, 以满足植物对氮素的需要。

1.5 测定方法

收获地上部先用自来水冲洗, 再用去离子水洗净, 在 105 ℃ 下杀青 30 min, 再在 70 ℃ 下烘干、称重。根系用自来水洗净后, 剪成 1 cm 的根段, 并采用曲利本蓝染色^[8], 网格交叉法^[9]测定根系侵染率。用水浸泡过筛法收集玻璃珠中的菌物, 在 70 ℃ 下烘至恒重, 用精密度为 $1/10^5 \text{ g}$ 的分析天平称重。植物全磷采用干灰化 - 钒钼黄比色法测定, 土壤有效磷为 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 碳酸氢钠浸提 - 钼蓝比色法测定。

2 试验结果

2.1 不同磷源对菌根侵染和植物生长的影响

两种真菌和玉米均形成了较好的共生关系, 见表 1。由表 1 可知, 在真菌与玉米的亲合力上, 表现为 *G. v.* 显著高于 BEG167, 前者的侵染率是后者的 2 倍。两种真菌的侵染率与施用的磷素形态无关。

不同磷源比较, 植酸钠处理玉米生物量最小, 显著低于以磷酸二氢钾和卵磷脂为磷源的处理。在以植酸钠为磷源时, 接种 *G. v.* 的地上部和根系干重显著高于接种 BEG167 处理。以磷酸二氢钾和卵磷脂为磷源时, 两种真菌接种对宿主植物生物量间无显著差异。

两种真菌对植酸钠处理反应差异还表现在宿主根冠比上。以植酸钠为磷源时, 接种 *G. v.* 处理玉米的

表 1 不同真菌和磷源处理玉米生物量和根系的侵染率

Table 1 Biomass and root colonization of maize inoculated with different fungi under different treatment of various P forms					
磷形态	真菌种类	侵染率/%	地上部干重/g	根系干重/g	根冠比
磷酸二氢钾	BEG167	28. 3b	14. 13a	8. 42a	0. 60a
	<i>G. v</i>	60. 3a	14. 47a	8. 12a	0. 56a
植酸钠	BEG167	31. 8b	7. 38c	3. 61c	0. 49b
	<i>G. v</i>	61. 3a	8. 85b	5. 09b	0. 58a
卵磷脂	BEG167	29. 0b	14. 03a	8. 28a	0. 59a
	<i>G. v</i>	60. 2a	14. 52a	8. 74a	0. 60a

注:同一列中不同字母表示处理间在 5% 水平下的差异显著性,下同。

根冠比显著高于 BEG167 接种处理,而前者与其它磷源处理的植株的根冠比间却无显著差异。

2. 2 不同磷素形态和真菌对玉米磷素吸收的影响

就地上部磷素含量而言,施用磷酸二氢钾、接种 *G. v* 的处理最高,显著高于其它处理,其余处理间无显著的差异,见表 2。根系含磷量以施用磷酸二氢钾、

卵磷脂接种 *G. v* 的最高。但根系含磷量存在显著的真菌种类差异,接种 *G. v* 的处理高于接种 BEG167 的处理。

植物的磷素吸收量上,不仅存在菌种差异,也与磷素形态显著相关。磷酸二氢钾和卵磷脂处理的显著高于植酸钠处理,接种 *G. v* 的显著高于接种接种 BEG167 的处理。

表 2 不同真菌和磷源处理玉米地上部和根系的磷素吸收

Table 2 Content and uptake of P by maize inoculated with different fungi under different treatment of various P forms					
磷形态	真菌种类	地上部含磷量/%	地上部吸磷量/mg·盆 ⁻¹	根系含磷量/%	根系吸磷量/mg·盆 ⁻¹
磷酸二氢钾	BEG167	0. 14b	19. 34b	0. 14b	11. 45b
	<i>G. v</i>	0. 17a	24. 18a	0. 16a	12. 60a
植酸钠	BEG167	0. 13b	9. 81d	0. 12c	4. 21e
	<i>G. v</i>	0. 14b	12. 54c	0. 13b	6. 50d
卵磷脂	BEG167	0. 14b	20. 12b	0. 12c	10. 30c
	<i>G. v</i>	0. 14b	20. 63b	0. 15a	13. 44a

2. 3 植物室土壤有效磷含量

菌根的形成可使宿主通过真菌的根外菌丝来吸收根际以外的磷。由图 1 可知,植物室的有效磷含量与磷素形态和接种的真菌种类存在密切关系,各处理间存在显著差异。对同一真菌接种处理而言,施用不同形态磷素处理植物室有效磷的含量大小顺序为磷酸二氢钾> 卵磷脂> 植酸钠,这与 3 种磷素形态的有效性以及植物吸收磷素能力有关。施用同一形态磷素的处理,接种 *G. v* 的玉米对植物室磷素的消耗量显著大于接种 BEG167,表明 *G. v* 在提高宿主利用根际磷能力上显著高于 BEG167。

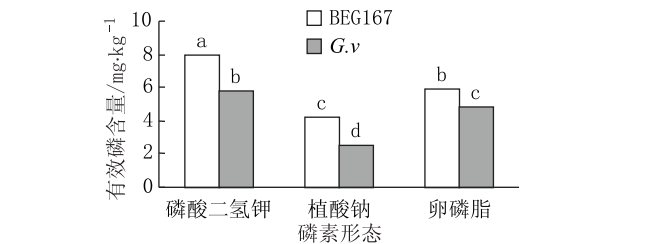


图 1 接种真菌及不同磷素形态处理植物室土壤有效磷含量

Figure 1 Content of available P in plant compartments with different P forms applied and fungi inoculated

2. 4 不同磷源对真菌根外菌物量的影响

由图 2 可知,所有的处理均收集到了根外菌物,表明两种真菌与宿主形成共生体后在根外形成了相当的根外菌丝体系。不同真菌根外菌物量存在显著的差异,BEG167 小于 *G. v*。虽然不同磷素形态对同种真菌根外菌物量有一定的影响,但未达到显著水平。

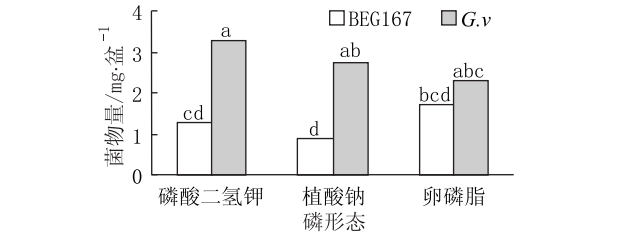


图 2 不同磷素形态处理下的 BEG167 和 *G. v* 的菌物量

Figure 2 Fungal biomass of BEG167 and *G. v* under different P treatments

3 讨论

不同的磷素形态对宿主植物的生长、植物磷含量和植物室土壤有效磷含量有显著的影响。这主要是由于两方面的原因:其一,磷素形态间存在着有效性差

异,一般而言,磷酸二氢钾> 有机磷,而有机磷中,卵磷脂> 植酸盐^[10];其二,不同真菌在磷素吸收上具有差异,本结果表明,BEG167 的吸收能力小于 *G. v*。这可能与真菌的生物学有关,*G. v* 比 BEG167 具有更高的根外生物量,有更大的表面积吸收更多的磷素。此外,对同种磷素形态,真菌利用的程度可能存在差别。

本试验条件下的研究结果表明,在磷用量 50 mg · kg⁻¹ 水平下磷素形态对菌根侵染率、根外菌丝的生长没有显著的影响。但并不能说明生态系统中磷素不能对 AM 真菌的生长产生影响。一方面,磷素的浓度在各种土壤中变异很大,磷浓度不同可能对真菌的影响程度也不同;另一方面,各种土壤中有机磷是混合存在的,不同有机磷的交叉应用可能对真菌生长的影响有所不同;最后,真菌生长受土壤磷素的调控能力可能最终是由土壤有效磷的浓度决定的。有机磷对土壤有效磷素浓度的调节作用是其对真菌产生影响的原因。因此,进一步对不同磷素和不同浓度下的真菌生长效应以及不同形态磷素的交叉效应进行研究具有重要的意义。

真菌的生长不仅受控于多种土壤环境因子,与其生物学特征也密切相关。孢子的数量、密度对根外菌物量的影响极大。BEG167 菌丝体发达但孢子数量却较少;*G. v* 具有很强产孢能力,能产生大量孢子,菌丝相对较少,所以有更多的生物量。另外,收获时间可能是影响根外菌物量的重要因素,本试验 AM 真菌生长了 8 周,这个时期是根外菌丝重要的生长期,也是孢子形成的初始时期。本试验表明,在共生 8 周时,磷素形态没有影响真菌的生长特征。因此,在更长的生长期,不同磷素形态可能对真菌产孢子有所影响,继而影响真菌的生长量,这需要进行进一步验证。

不同的丛枝菌根真菌具有各自的生长特征和侵染方式^[11]。土壤因子变异影响 AM 真菌的形成和功能,良好的菌根生态系统应该是一个真菌-宿主兼容

性高、土壤和气候等环境因子友好的体系。进一步了解不同种类的 AM 真菌对土壤条件的生态适应性,有助于从应用的角度选用高效真菌资源,建立起真菌-植物-土壤间的最佳体系。

参考文献:

- [1] Abbott L K, Robson A D, De Boer G. The effect of phosphorus on the formation of hyphae in soil by vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi, *Glomus fasciculatum* [J]. *New Phytologist*, 1984, 97: 437 - 246.
- [2] Tarafdar J C, Marschner H. Phosphatase activity in the rhizosphere and hyphosphere of VA mycorrhizal wheat supplied with inorganic and organic phosphorus [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26(3): 387 - 395.
- [3] 冯海艳. 磷素水平和土壤条件对 AM 真菌生长和活性的调控[D]. 北京:中国农业大学博士学位论文,2003.
- [4] Chen B D, Christie P, Li X L. A modified glass bead compartment cultivation system for studies on nutrient and trace metal uptake by arbuscular mycorrhiza [J]. *Chemosphere*, 2001, 42: 185 - 142.
- [5] Redecker D, Thierfelder H. and Werner D. A new cultivation system for arbuscular mycorrhizal fungi on glass beads. *Angew [J]. Botany*, 1995, 69: 189 - 191.
- [6] Richardson A E. Soil microorganisms and phosphorus availability [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 50 - 62.
- [7] Feng G, Song Y C, Li X L, Christie P. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to utilization of organic sources of phosphorus by red clover in a calcareous soil [J]. *Applied Soil Ecology*, 2003, 22: 139 - 148.
- [8] Phillips J M and Haymann D S. Improved procedures for cleaning and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection [J]. *Transactions of the British Mycological Society*, 1970, 55: 158 - 160.
- [9] Giovannetti M, Mosse B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular infection in roots [J]. *New Phytologist*, 1980, 84, 489 - 500.
- [10] Stevenson F J, Cole M A. Cycles of Soil: Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients, 2nd [C]. Ed. Wiley, New York, 1999, 279 - 329.
- [11] Hart M M and Reader R J. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi [J]. *New Phytologist*, 2002, 153: 335 - 344.