

# 接种 AM 真菌对 Cu 污染土壤中紫云英吸收 N P K的影响

陈秀华, 赵 斌

(华中农业大学农业微生物国家重点实验室, 湖北 武汉 430070)

**摘 要:** 以盆栽试验法分析了在土壤 Cu 水平为 0、20、50、100、150 mg·kg<sup>-1</sup> 的条件下, 接种 *Glomus intraradices*, 接种 *Glomus mosseae* 及混合接种 *Glomus intraradices*、*Glomus mosseae* 对宿主植物紫云英吸收 N、P、K 的影响。结果表明, 与不接种相比, 接种 AM 真菌显著提高了宿主植物对 N、P、K 的吸收, 土壤中 Cu 浓度越高, 接种处理对紫云英吸收 N、P、K 的效果越显著。在 Cu 污染土壤中接种 AM 真菌增加宿主植物对 N、P、K 等营养元素的吸收有可能是宿主植物对 Cu 污染抗性提高的原因之一。

**关键词:** AM 真菌; 紫云英; Cu; N; P; K

**中图分类号:** X172, X171.5      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1672-2043(2005)03-0438-04

## Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Uptake of N, P and K by *Astragalus sinicus* L. in Copper Polluted Soil

CHEN Xiu-hua, ZHAO Bin

(National Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract:** In a pot experiment we examined the effect of inoculating *Astragalus sinicus* L with *Glomus intraradices*, *Glomus mosseae* and their mixture on the uptake of nitrogen, phosphorus and potassium in copper polluted soil. The result showed that the uptake of nitrogen, phosphorus and potassium decreased both in aboveground part and underground part of *Astragalus sinicus* L with the increase of copper content in the soil. Compared to the non-inoculated control, the inoculation increased the uptake of nitrogen, phosphorus and potassium, which varied with the inoculation fungi, *Glomus intraradices* was more effective than *Glomus mosseae*, suggesting *Glomus intraradices* had more resistance to copper than *Glomus mosseae*. In polluted soil the symbiosis of AM fungi and the plant can extend the area of root and improve the nutrition of plant. Inoculating the AM fungi which can resist heavy polluted soil could help the remediation of polluted environment, since the inoculation improved the plant growth by increasing the uptake of nutrients such as nitrogen, phosphorus and potassium.

**Keywords:** arbuscular mycorrhizal fungi; *Astragalus sinicus* L.; copper; nitrogen; phosphorus; potassium

随着工矿业的发展和污泥的广泛施用, 土壤中重金属污染越来越严重。由于重金属在环境中只存在价态的转化, 不能被微生物降解而从环境中彻底消除, 当其在土壤中积累到一定程度时就会对土壤-植物系统产生毒害和破坏作用, 包括退化土壤肥力、降低作物产量与品质、恶化水环境等, 而且重金属还能通过

食物链危及人类的生命和健康。目前世界上受金属污染的土壤在不断增加, 这已成为深受全球关注的环境问题。因此, 土壤系统中的金属(尤其是重金属)污染与治理一直是国际上的难点与热点研究课题。

Cu 是重金属中的一种, 也是植物生长发育所必需的微量元素之一, 对植物正常的生理代谢及生长发育起着很重要作用。同其他重金属一样, 过量的 Cu 可对植物造成毒害, 主要是破坏细胞膜、叶绿体、线粒体和细胞核等的超微结构, 使植物酶系统及光合作用等生理过程受阻, 影响光合作用的进行和营养元素的吸收<sup>[1]</sup>, 抑制植物生长, 甚至导致植物死亡。因此, 改良并

收稿日期: 2005-01-21

基金项目: 欧盟项目 INCO-DEV Project ICA4-30014 和国家自然科学基金(30270051)

作者简介: 陈秀华(1970—), 女, 讲师, 在读博士, 主要从事有关菌根生态学、菌根生理学及环境微生物方面的研究。

E-mail: chxiuhua@webmail.hzau.edu.cn

联系人: 赵 斌 E-mail: fybzha@public.wh.hb.cn

修复金属污染土壤,已成为当今我国农业可持续发展 and 环境质量改善中多学科共同感兴趣的课题。

丛枝菌根真菌 (*Arbuscular mycorrhizal fungi*, AMF)是菌根真菌的重要组成部分,它能与大部分陆生植物形成共生体系。在这一共生体系中,植物为菌根真菌提供碳水化合物,而菌根真菌通过其庞大的菌丝网络提高植物对土壤中矿质养分的吸收<sup>[2]</sup>。很多研究表明在重金属污染的土壤中接种 AM 真菌对宿主植物是有益的<sup>[3-6]</sup>,但有关研究分歧较大<sup>[7]</sup>。对于接种菌根提高重金属抗性的机理还待进一步研究。本试验就是在人为 Cu 污染土壤中种植紫云英,通过测定接种和未接种 AM 真菌对紫云英 N、P、K 吸收量的影响,探讨在重金属污染情况下菌根真菌-植物共生系统对植物吸收营养元素的影响,进而考查菌根真菌在提高宿主植物对重金属抗性方面的机理。

## 1 试验方法

### 1.1 供试材料

供试植物:紫云英(*Astragalus sinicus* L.),来自华中农业大学,紫云英种子经 2%NaClO 溶液表面消毒 5 min 后,用蒸馏水反复清洗,置于培养箱中催芽。

供试菌株:*Glomus intraradices* Schenck & Smith 和 *Glomus mosseae* Gerdemann & Trappe 组成(法国农科院 INRA, Institut National de la Recherche Agronomique~France 提供)。接种剂为繁殖 6 个月的紫云英盆栽土,含有感染的根段、AM 真菌孢子、根外菌丝和根际土壤的混合物。

供试土壤:采自华中农业大学附近农田,自然风干后过 2 mm 筛,与河沙 1:1(V/V)混合均匀,121℃蒸汽压灭菌 1 h,连续灭菌 3 次。土壤的 pH 值 6.0(1:2.5 水浸),有机质含量 13 g·kg<sup>-1</sup>,速效 N 410 mg·kg<sup>-1</sup>,速效 P 5.75 mg·kg<sup>-1</sup>,速效 K 67.11 mg·kg<sup>-1</sup>,土壤有效 Cu 0.67 mg·kg<sup>-1</sup>,土壤全 Cu 69.21 mg·kg<sup>-1</sup>。

供试金属元素:重金属元素铜(CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O),分析纯化学试剂。

### 1.2 试验设计

重金属 Cu 设 5 个浓度水平,分别为 0、20、50、100、150 mg·kg<sup>-1</sup>,以 CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 溶液的形式在盆栽前两周拌入土中。接种处理分接种 *Glomus intraradices* (*G.i*)、接种 *Glomus mosseae* (*G.m*)、混合接种 *Glomus intraradices* 和 *Glomus mosseae* (*G.i+G.m*) 及不接种对照(NM)4 种,每个处理重复 3 次,共 5×4×3 个处理。

盆栽钵为白色塑料钵,每钵装灭菌土 600 g,接种量为 6%(W/W),接种方法为层施,未接种处理组加入等量的灭菌接种剂。每钵播种已催芽的紫云英 4 株,根据土壤含水量浇灌蒸馏水,以保持土壤水分为最大田间持水量的 60%,定期浇灌含 P 量为 1/10 的 Hogland 营养液,以满足植物生长期对养分的需求及保持低 P 水平。植物生长在 25℃~22℃的温室中,每日光照 14h,第 7 周收获,植物体烘干磨细过筛供 N、P、K 含量分析。

### 1.3 植物体氮、磷、钾含量分析

植物全 N 采用 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 消煮-奈氏试剂比色法,植物全 P 采用 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 消煮-钼锑抗比色法,植物全 K 采用 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 消煮-火焰光度计法<sup>[8]</sup>。

### 1.4 统计分析

所有试验数据均通过 SAS 软件进行差异性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 接种 AM 真菌对紫云英吸收 N 的影响

从表 1 可以看出,接种 AM 真菌显著增加了紫云英对 N 的吸收,紫云英地上和地下部分 N 的吸收量显著提高。由于接种处理显著提高了紫云英的生物量(另有报道),接种处理并没有显著增加植物体内 N 浓度,但接种 AM 真菌显著提高了紫云英地上、地下部分 N 吸收量,在 0、20、50、100、150 mg·kg<sup>-1</sup> 土壤 Cu 水平,混合接种 *G.i+G.m* 的紫云英地上部分 N 吸收量分别是对照的地上部分 N 吸收量的 1.91、1.39、1.67、2.25、5.44 倍,地下部分 N 吸收量分别是对照的 N 吸收量的 1.61、1.67、1.53、1.87、4.51 倍,单接种 *G.i* 和单接种 *G.m* 也显著增加了紫云英对 N 的吸收。从地下部分与地上部分 N 浓度的比值来看接种 AM 真菌促进了 N 从地下部分向地上部分的转移,说明接种 AM 真菌能增加植物对养分元素的吸收,促进 N 的转移,改善植物营养<sup>[2]</sup>。

不同土壤 Cu 水平对紫云英地上部分 N 浓度有一定的影响,土壤 Cu 浓度≤50 mg·kg<sup>-1</sup> 时,随着施 Cu 量的增加,紫云英地上部分 N 浓度增加,土壤 Cu 浓度>50 mg·kg<sup>-1</sup> 时,随着施 Cu 量的增加,紫云英地上、地下部分 N 浓度和 N 吸收量降低,说明土壤低浓度 Cu 处理促进了紫云英对 N 的吸收,当土壤中 Cu 浓度大于 50 mg·kg<sup>-1</sup> 阻碍了植物对 N 的吸收,这主要与紫云英在 Cu 污染土壤中根细胞结构遭到破坏有关。本研究中高浓度 Cu 污染紫云英根系呈黑褐色,

无须根,根表皮破损。研究表明<sup>[9]</sup>紫云英吸收过量的 Cu 使根细胞受损,细胞壁变黑增厚,细胞膜变形,细胞质收缩,以至发生质壁分离,根系无法为植株输送养分和水分。

2.2 接种 AM 真菌对紫云英吸收 P 的影响

在土壤 Cu 浓度 < 50 mg·kg<sup>-1</sup> 时,接种 Gi 提高了紫云英地上、地下部分 P 浓度,在其他土壤 Cu 浓度及其他接种条件下,接种并没有显著提高紫云英地上、地下部分 P 浓度,这可能是由于生物稀释效应使接种植物体内 P 得到了稀释,但混合接种 Gi+G.m 和单接种 Gi 显著提高了紫云英对 P 的吸收量。在 0、20、50、100、150 mg·kg<sup>-1</sup> 土壤 Cu 水平混合接种 Gi+G.m 处理的紫云英地上部分 P 吸收量分别为未接种紫云英地上部分 P 吸收量的 1.94、1.68、1.84、2.44、5.18 倍,地下部分 P 吸收量分别为未接种紫云英的 1.77、1.68、1.48、2.04、4.86 倍,接种 Gi 也显著提高了 P 吸收量,接种 G.m 对紫云英 P 吸收量的影响不明显。土壤 Cu 水平对紫云英体内 P 浓度和 P 吸收量也有显著影响,在土壤 Cu 浓度 >50 mg·kg<sup>-1</sup> 时,随着施 Cu 量的增加,紫云英地上、地下部分 P 浓度和 P 吸收量降低(见表 1),可见 50 mg·kg<sup>-1</sup> 土壤 Cu 水平是紫

云英吸收营养元素进行正常生理代谢的临界值,高于这个浓度土壤中的 Cu 抑制植物对营养元素的吸收,表现出对植物的毒害效应。

2.3 接种 AM 真菌对紫云英吸收钾的影响

接种 AM 真菌可以增加紫云英对 K 的吸收,土壤中 Cu 浓度越高,接种处理对紫云英吸收 K 的效果越显著(见表 1)。接种 Gi 的紫云英地上、地下部分 K 含量显著高于其他处理,在 0~150 mg·kg<sup>-1</sup> 处理下接种 Gi 紫云英地上部分 K 浓度与未接种紫云英地上部分 K 浓度的比值分别为 1.49、1.78、1.79、2.21、3.38,钾吸收量的比值分别为 3.04、3.11、3.59、5.19、21.29。地下部分 K 浓度的比值分别为 1.77、3.36、9.69、18.67、775,K 吸收量的比值分别为 5.40、6.32、13.90、33.32、3 644.46。混合接种 Gi+G.m 和接种 G.m 也显著提高了 K 的吸收量,且混合接种 Gi+G.m 显著提高了 K 从地下部分向地上部分的转移。

土壤中 Cu 水平对紫云英吸收 K 有显著影响,随着土壤 Cu 水平增加,紫云英地上、地下部分 K 浓度下降,各种浓度土壤 Cu 处理对植物吸收 K 均表现出抑制效应。可见抑制植物吸收 K 的土壤 Cu 浓度临界值小于 20 mg·kg<sup>-1</sup>,低于抑制 N、P 吸收的土壤 Cu 浓

表 1 接种 AM 真菌对紫云英 N、P、K(mg·g<sup>-1</sup>)和 N、P、K 吸收量(mg·株<sup>-1</sup>)的影响  
Table 1 Effect of inoculations on the content of nitrogen,phosphate and potassium in *Astragalus sinicus* under various concentrations of copper added

| 土壤<br>Cu 水平 | 接种<br>处理 | N 浓度     |            | N 吸收量     |           | P 浓度     |         | P 吸收量   |         | K 浓度     |         | K 吸收量    |          |
|-------------|----------|----------|------------|-----------|-----------|----------|---------|---------|---------|----------|---------|----------|----------|
|             |          | 地上       | 地下         | 地上        | 地下        | 地上       | 地下      | 地上      | 地下      | 地上       | 地下      | 地上       | 地下       |
| 0           | Gi       | 36.54cd  | 30.21bc    | 101.93a   | 53.99a    | 4.29ab   | 4.13cde | 14.38a  | 8.15a   | 42.80a   | 31.10a  | 142.5a   | 54.06a   |
|             | Gi+G.m   | 34.71def | 29.29bcd   | 112.44a   | 34.83b    | 3.60efgh | 4.38bc  | 11.70bc | 5.23b   | 33.68c   | 7.09f   | 76.60c   | 8.27def  |
|             | G.m      | 39.53b   | 33.90a     | 78.63cde  | 33.45b    | 2.92ij   | 3.59fg  | 6.22de  | 3.56bcd | 31.06c   | 16.87d  | 61.60d   | 16.84cde |
|             | NM       | 36.01d   | 29.20bcd   | 58.87fg   | 21.61bcd  | 3.70defg | 3.96def | 6.04de  | 2.95bcd | 28.73cd  | 13.54e  | 46.94ef  | 10.02def |
| 20          | Gi       | 39.07b   | 28.26bcdef | 88.21bc   | 34.28b    | 4.11abcd | 4.27bcd | 12.86ab | 5.24b   | 42.9a    | 26.65b  | 133.76a  | 32.37b   |
|             | Gi+G.m   | 35.43def | 27.95cdef  | 89.58bc   | 32.36b    | 4.36a    | 4.58ab  | 11.07bc | 4.21bc  | 32.34c   | 5.88fg  | 81.59c   | 3.51f    |
|             | G.m      | 43.87a   | 29.03bcd   | 83.77cd   | 27.43bc   | 3.37fgh  | 3.71fg  | 6.44de  | 2.23bcd | 30.37c   | 13.88e  | 57.01de  | 8.40def  |
|             | NM       | 36.07d   | 30.46b     | 64.34efg  | 19.40bcde | 3.69defg | 3.92def | 6.60de  | 2.50bcd | 24.06ef  | 7.94f   | 42.99ef  | 5.12ef   |
| 50          | Gi       | 39.46b   | 25.32ghi   | 69.14def  | 23.96bcd  | 3.80cdef | 4.27bcd | 10.38c  | 4.05bc  | 38.24b   | 29.37ab | 103.43b  | 27.47bc  |
|             | Gi+G.m   | 35.91de  | 28.49bcde  | 82.84bc   | 29.09bc   | 4.17abc  | 4.66a   | 9.66c   | 4.71bc  | 24.41def | 3.68gh  | 56.08de  | 4.15ef   |
|             | G.m      | 44.53a   | 28.90bcd   | 84.04cd   | 26.88bc   | 4.05abcd | 4.76a   | 7.03d   | 2.80bcd | 25.56de  | 12.34e  | 48.33def | 7.20def  |
|             | NM       | 36.82cd  | 28.37bcde  | 49.74g    | 18.99bcd  | 3.87bcde | 4.79a   | 5.24de  | 3.18bcd | 21.34efg | 3.03hij | 28.79g   | 1.98f    |
| 100         | Gi       | 38.70bc  | 25.07hi    | 48.05g    | 17.05bcd  | 3.26ghi  | 3.79ef  | 6.24de  | 2.51bcd | 31.96c   | 28.57ab | 61.41d   | 19.47cd  |
|             | Gi+G.m   | 33.23f   | 26.08fgh   | 64.71efg  | 19.45bcd  | 3.61efgh | 4.29bcd | 7.03d   | 3.23bcd | 22.95ef  | 2.55h   | 44.49ef  | 1.75f    |
|             | G.m      | 44.12a   | 27.65def   | 72.07cdef | 18.97bcd  | 2.65j    | 3.11h   | 4.31ef  | 2.14bcd | 22.34efg | 11.83e  | 6.41fg   | 8.18def  |
|             | NM       | 34.95def | 27.41defg  | 18.65h    | 10.41cde  | 3.51efgh | 4.17cde | 2.88f   | 1.58cd  | 14.46h   | 1.53hi  | 11.80h   | 0.58f    |
| 150         | Gi       | 36.27d   | 23.89i     | 20.99h    | 11.95cde  | 2.59j    | 3.36gh  | 2.24fg  | 1.67cd  | 32.88c   | 23.24c  | 28.71g   | 11.66def |
|             | Gi+G.m   | 30.87g   | 24.55hi    | 24.99h    | 12.62cde  | 2.76j    | 3.81ef  | 2.27fg  | 1.99bcd | 18.13gh  | 0.65hi  | 14.44h   | 0.25f    |
|             | G.m      | 36.26d   | 26.44efg   | 5.07i     | 3.75de    | 2.04k    | 2.45h   | 0.29g   | 0.35d   | 19.93fg  | 7.70f   | 2.76h    | 1.10f    |
|             | NM       | 33.61ef  | 26.14fgh   | 4.59i     | 2.80e     | 3.22hi   | 3.79ef  | 0.44g   | 0.41d   | 9.70i    | 0.03i   | 1.35h    | 0.003f   |

注:表中数据代表同种处理 3 个重复的平均值,显著性分析采用 Duncan's Multiple Range Test,同一列中的不同字母表示差异达到 5%显著水平。

度临界值。在 Cu 污染土壤中接种 AM 真菌可改善紫云英对 K 的吸收,特别是在高浓度土壤 Cu 处理下,未接种 AM 真菌的紫云英对 K 的吸收受到严重抑制,但接种苗地上、地下部分仍含有相当高的 K,接种 AM 真菌通过增加宿主对营养元素的吸收,提高在重金属污染土壤中的生存能力。

### 3 讨论

在一定的土壤养分含量范围内菌根真菌促进了宿主植物对土壤养分的吸收,促进宿主植物的生长在许多植物上得到证实,涉及的元素包括 P、Cu、Zn、B、S、N 等矿质养分<sup>[2]</sup>。菌根真菌对植物根系的侵染是改善宿主植物矿质营养的先决条件,由于菌根真菌和根系的生长介质是土壤,因此土壤中的许多因素影响着菌根真菌对宿主植物的侵染,其中土壤中重金属污染是影响菌根真菌的存活及侵染的因素之一。

研究表明在 Cu 污染土壤中接种 AM 真菌显著增加了宿主植物对 N、P、K 的吸收,随着土壤 Cu 水平升高紫云英对 N、P、K 的吸收受到明显抑制,但接种植物对 N、P、K 的吸收显著高于未接种处理,且不同接种剂之间存在着差异。从统计结果可以看出接种 *G.i* 及混合接种 *G.i+G.m* 对增加紫云英 N、P、K 的吸收量的影响大于接种 *G.m* 的影响,说明不同菌根真菌对宿主植物的选择性不同,在重金属污染土壤中不同的菌根真菌的存活性及对宿主植物的侵染率不同,因而对宿主植物的影响程度也不同。

在重金属污染的土壤中菌根真菌与宿主植物形成共生关系后,即使在根系受到伤害的情况下,菌丝仍能主动吸收矿质营养,保持植物的生长。因此筛选耐重金属污染的菌根真菌作为接种剂,使之在重金属

污染土壤中与宿主植物形成共生关系,增加宿主植物吸收营养元素是对重金属污染土壤进行生物修复的一个方面。本研究中接种 AM 真菌增加宿主植物对 N、P、K 等营养元素的吸收是提高宿主植物对 Cu 污染抗性的原因之一。

### 参考文献:

- [1] 倪才英,陈英旭,骆永明,等.紫云英(*Astragalus sinicus* L.)对重金属胁迫的响应[J]. 中国环境科学,2003,23(5):503-508.
- [2] George E,Haeussler K,Kothari S K, et al . Contribution of mycorrhizal hyphae to nutrient and water uptake of plants[C]. In: Read D J.(eds) . Mycorrhizas in Ecosystems[A],Oxon UK:CAB 1992.International.
- [3] El-Kherbawy M, Angle JS, Heggø A, Chaney RL. Soil pH, rhizobia, and vesicular-arbuscular mycorrhizae inoculation effects on growth and heavy metal uptake of alfalfa (*Medicago sativa* L.)[J]. *Biol Fert Soils*, 1989, 8:61-65.
- [4] Heggø A, Angle JS, Chaney RL. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on heavy metal uptake by soybeans[J]. *Soil Biol Biochem*, 1990, 22:865-869.
- [5] Weissenhorn I, Leyval C, Belgy G, Berthelin J. Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy metal uptake by maize (*Zea mays* L) in pot culture with contaminated soil[J]. *Mycorrhiza*,1995,5:245-251.
- [6] B.D..Chen , X.L.Li, H.Q.Tao, P.Christie, M.H.Wong. The role of arbuscular mycorrhiza in zinc uptake by red clover growing in a calcareous soil spiked with various quantities of zinc[J]. *Chemosphere*,2003,50: 839-846.
- [7] Jones M D, Hutchinson T C. Nickel toxicity in mycorrhizal birch seedlings infected with *Lactarius rufus* or *scleroderma flavidum*, II Uptake of nickel, calcium, magnesium, phosphorus and iron[J]. *New Phytol*, 1988,108:461-470.
- [8] 鲍士旦.土壤农化分析(第二版)[M]. 北京:中国农业出版社 2000.
- [9] 倪才英,陈英旭,骆永明.红壤模拟 Cu 污染下紫云英根表形态及其组织和细胞结构变化[J]. 环境科学,2003,24(3):116-121.