

五室隔板法研究三叶草根间菌丝桥磷传递的可行性*

张俊伶 李晓林 杨志福 李春俭 张福锁

(中国农业大学资源和环境学院,北京 100094)

摘要: 应用五室隔板法研究了三叶草根间菌丝桥对³²P的传递作用。结果表明,菌根侵染供体植株根系之后,可以穿过隔板再度侵染受体植株的根系,从而形成植株根系之间的菌丝桥。这一菌丝桥将施用 在供体植株的³²P 运输到受体植株。表明五室隔板法可以在排除其他养分传递途径的情况下用以研究三叶草植株根间菌丝桥在³²P 传递中作用。

关键词: 菌根; 三叶草; 菌丝桥; 养分传递

中图分类号: S131.2

菌根植物间有多种传递养分途径,主要包括:不同植株的根系直接接触而传递养分;养分由一株植物的根系释放出来再为另一株植物根系所吸收;植株间依靠菌丝传递养分,其中包括:植株通过菌丝直接传递养分;由一株植物的根系释放到土壤中,另一株植物的根系进行再吸收或菌根植物的菌丝释放出养分再为另一株植物的菌丝吸收等。近年来,关于菌丝桥在植株间磷素传递中的作用日益引起人们的关注。主要因为,一方面磷素是植物生长的必需营养元素,在农业生产中有重要作用。另一方面,菌丝运输磷素的能力比较强,易于检测。一些研究表明,菌丝桥可以在植株间传递磷素,缓解植物受到的短暂的磷营养胁迫^[1~4]。目前大多数试验采用将植物混种或室内分室盆栽方法^[5,6]。混种即将供体植物和受体植物种在一起进行研究,分室即用单层网将供体植物和受体植物分开,要求筛网的孔径允许菌丝穿过而限制根系穿过,双层网主要增加根间无根区的距离以防止养分在根间进行直接传递。上述方法缺陷在于无法完全排除养分通过其他途径如植株根系间直接接触等从一株植物的根系向另一株植物根系的转移,因而所得试验结果难以解释菌丝桥在植株养分传递中的确切作用及其强度。本试验试图解决以上研究中存在的问题,借助放射性³²P 标记技术,试验五室隔板法研究菌丝桥传递磷素方面的可行性。

1 试验材料和方法

1.1 试验用盆 采用有机玻璃制成的五室隔板系统,试验装置见图1。包括A,B,C,D和E五个小室。A,C,E室规格均为宽8cm,高8cm,长3cm;B,D室大小相同为2cm×8cm×8cm。A,B室,C,D室及D,E室之间用

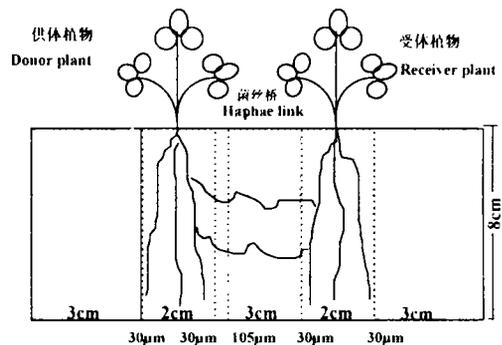


图1 五室隔板装置示意图

Fig. 1 Diagram of the pot used

收稿日期: 1995-05-18

* 国家自然科学基金和国家杰出青年基金资助项目

孔径 30 μm 的尼龙网隔开,以限制根系在边室中生长,而菌根菌丝可以穿过尼龙网到边室中吸收养分。B室和C室之间用玻璃板隔开,玻璃板上开有尽可能多的直径为 4 mm 的孔。玻璃板靠近 B 室的一边为 30 μm 孔径的细尼龙网,靠近 C 室的一边为 105 μm 的粗尼龙网。玻璃板的作用是形成空气层从而只允许菌丝穿过,可以在植物根系间传递养分,而防止养分随水分从供体植株一侧向受体植株一侧移动。A, E 室起缓冲水分的作用,防止浇水过程中 B, D 室中水分的过度饱和。C 室目的在于减少养分的直接扩散。

1.2 供试土壤 采用北京大兴县庞各庄乡的砂壤土。土壤的基本理化性状见表 1。土壤经 1mm 过筛后在 120 $^{\circ}\text{C}$ 下高压蒸汽灭菌 2 h,以消除土壤中的真菌孢子。

表 1 供试土壤的基本理化性状

Table 1 The properties of the soil

| 有机质/% | 全氮/% | 速效磷/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ | 速效钾/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ | 缓效钾/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ | pH 值(盐浸) | 田间持水量/% |
|-------|---------|-------------------------------------|-------------------------------------|--|----------------|---------------------|
| O. M | Total N | Olsen-P | $\text{NH}_4\text{Ac-K}$ | $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{HNO}_3\text{-K}$ | Salt extracted | Field water content |
| 0.39 | 0.027 | 3.9 | 60.4 | 611.4 | 7.8 | 21.0 |

1.3 供试作物及菌根菌种 供体植物和受体植物均为红三叶草(*Trifolium pratense*)。供试菌种为 *Glomus mosseae*。先用玉米盆栽繁殖,生长 2 个月后用含有受到真菌侵染的根段和含有菌丝的根际土壤作为菌根接种剂。

1.4 试验设计 试验分同位素及相应的非同位素试验两组。各组的 B 室设 P_0, P_1 二个磷素水平处理, D 室均不施磷。B 室中植株为供体植株, D 室中植株为受体植株。分接种和不接种 VA 菌根真菌两种处理,各处理均设 4 个重复。

1.5 施肥水平 同位素

表 2 各室试验施肥水平

$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}(\text{soil})$

Table 2 Fertilizer applied in each compartment

| 养分 Nutrient | A, B | C, D, E | 肥料品种 Fertilizer |
|----------------|------|---------|--|
| N | 100 | 100 | NH_4NO_3 |
| Mg | 50 | 20 | $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ |
| K | 150 | 150 | K_2SO_4 |
| Cu | 10 | 0 | $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ |
| Zn | 10 | 0 | ZnSO_4 |
| 施磷水平 P levels | | 0 | |
| P_0 | 0 | | |
| P_1 | 50 | 0 | KH_2PO_4 |

试验和非同位素试验各处理的施肥水平完全相同。各室养分水平见表 2。同位素 ^{32}P 标记在 B 室,两个磷素水平磷标记量均为 0.4 $\text{mCi}\cdot\text{kg}^{-1}\text{P}_2\text{O}_5$ 。所有的肥料及 ^{32}P 均做底肥和土壤拌匀装盆。

1.6 接种菌根 接种菌

根真菌仅在 B 室中进行。50 g 接种剂和 100 g 土壤完全混匀后装入菌根处理的 B 室,对照组则加入相同重量的灭菌处理的接种土。D 室装入相同重量的砂壤土。其余三室土壤重量均为 250 g。装盆后各室土壤容重达 1.3 $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ 。

1.7 播种 三叶草种子在 10% H_2O_2 中浸泡 10 min 进行表面消毒,而后置于湿润的滤纸上放置一昼夜使之发芽,然后播于 B, D 室土壤中,各室 30 粒,并在土壤表面覆盖一层石英砂以减少水分的蒸发。

1.8 温度和光照 试验在温室中进行,生长期间维持温度在 20~25 $^{\circ}\text{C}$,光照时间为每天 14 h,每天早晨 7~8 时和下午 5~9 时用生物镉灯补充光照,其余时间靠自然光照射。

1.9 收获和测定 三叶草生长 9 周后进行收获。同位素试验三叶草的地上部烘干后用液

体闪烁计数器测定 B,D 室三叶草植株地上部的³²P 强度。非同位素试验则分别收获 B,D 室三叶草的地上部和根部,将根系洗净后从中称取 0.5 g,用酸性品红染色法测定菌根侵染率。

2 试验结果与分析

2.1 菌根侵染率 三叶草在根室 B,D 室中密集生长。在未接种菌根真菌的试验中 B,D 室均未发现菌根的侵染(图 2)。接种菌根真菌后,B,D 室植株根系都有菌根真菌的侵染。随磷素水平的提高 B,D 室菌根真菌的侵染率有所下降。在 B 室接种菌根真菌并比较同一磷素水平下根系的菌丝侵染率时发现,P₁ 水平下受体植株根系的菌根侵染率低于供体根系的侵染率,而 P₀ 条件下的结果则相反。

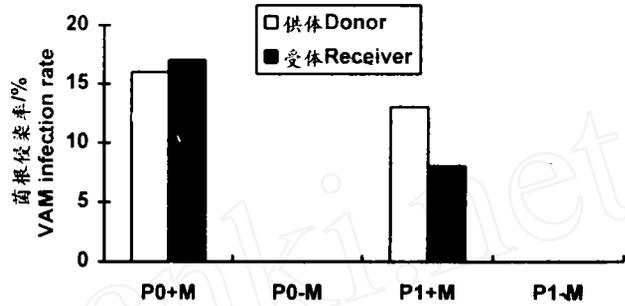


图 2 供体和受体植株菌根侵染率
Fig. 2 VAM infection rate of donor and receiver plants

2.2 植株体内的磷营养状况 同位素试验中,在接种菌根真菌时,两个磷素水平条件下 D 室中单位干物重三叶草植株³²P 放射性强度,P₁ 水平较 P₀ 水平有所增加,但未达显著水平(图 3),两者分别为 10 和 12 cpm·g⁻¹。D 室三叶草植株体内总的放射性强度也呈同样的趋势(图 4),P₀、P₁ 水平时分别为 19 cpm·g⁻¹ 及 25 cpm·g⁻¹。而在未接种菌根真菌时,两个磷素水平条件下,D 室中三叶草受体植株体内均检测不到³²P 放射性强度。所有处理 B 室无论单位干物重三叶草植株³²P 强度还是植株总的³²P 放射性强度基本不变。

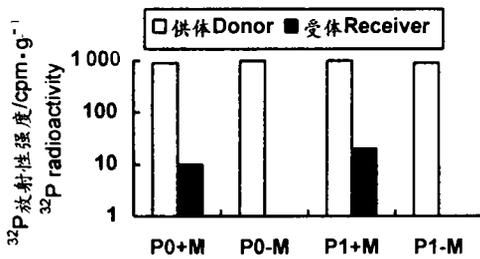


图 3 供体和受体植株地上部放射性强度
Fig. 3 ³²P radioactivity in shoot of donor and receiver plants

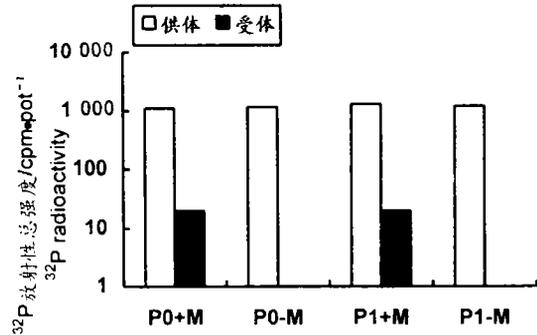


图 4 供体和受体植株地上部放射性总强度
Fig. 4 Total ³²P radioactivity in shoot of donor and receiver plants

2.3 不同磷素水平及菌根对三叶草植株生长的影响 图 5,表 3 分别为不同处理条件下同位素和非同位素试验三叶草植株的生长状况。在同位素试验中,B 室三叶草地上部的干物重随施磷水平的提高而增加,同一磷水平条件下,接种菌根真菌并未影响三叶草地上部的生长。D 室所有处理之间三叶草地上部的生物量几乎没有差异,不受施磷水平及接种菌根真菌的影响(图 5)。在非同位素试验中,B 室接种菌根真菌对 B 室中植株地上部和根干重以及 D

室中植株根干重的影响不明显,但使D室植株地上部干重明显减少,施磷对植物生长的影响类似于同位素试验的结果(图5,表3)。B,D两室三叶草根长变化的趋势也相同。除D室接种菌根真菌条件下,除 P_1 水平三叶草根长低于 P_0 水平外,其余处理 P_1 条件下三叶草的根长均略高于 P_0 条件下三叶草的根长。相同磷条件下,B室接种菌根真菌后,B,D室三叶草的根长与未接种菌根真菌三叶草的根长相比有所下降,而且在高磷条件下减少更多。

表3 不同磷素水平(B室)及菌根对供体、受体三叶草植株干物重及根长的影响(非同位素试验)

Table 3 Shoot and root dry weight of donor and receiver red clover under different P levels (B compartment) and mycorrhiza treatment (Non-isotope experiment)

| 处理 Treatment | 地上部干物重/ $g \cdot pot^{-1}$ Shoot DW | | 根干物重/ $g \cdot pot^{-1}$ Root DW | | 根长/ $m \cdot pot^{-1}$ Root length | |
|-----------------|--|-------------|-------------------------------------|-------------|---------------------------------------|-------------|
| | 供体 Donor | 受体 Receiver | 供体 Donor | 受体 Receiver | 供体 Donor | 受体 Receiver |
| P_0+M | 1.86b* | 1.58b* | 0.59b* | 0.63a* | 91.2b* | 91.1b* |
| P_0-M | 1.82b | 1.94a | 0.53b | 0.65a | 94.1b | 110.8a |
| P_1+M | 3.27a | 1.50b | 0.93a | 0.46b | 120.6b | 83.9b |
| P_1-M | 3.14a | 2.05a | 0.90a | 0.64a | 160.4a | 129.8a |

*应用L.S.R法检验处理间差异程度,同一列中的不同字母表示差异达到5%显著水平。

The L.S.R method was used to test the significance of differences. Means in a column followed the different letters are significantly different at $P \leq 0.05$.

3 讨论

本试验接种菌根真菌后,受体植株根部有菌根真菌的侵染(图2),且在受体植株体内检测到 ^{32}P 放射性(图3,4),而未接种菌根真菌受体植株根部没有菌根的侵染,也没有检测到放射性的 ^{32}P ,说明有 ^{32}P 通过菌丝桥从供体植物进入受体植物,表明五室隔板法可以在完全排除其他养分传递途径的情况下,用以研究植物间菌丝桥在磷素传递中的作用。

五室方法研究菌丝桥在磷素传递中

的作用时也受到试验本身的限制。供体植物菌根菌丝必须穿过隔板和网膜进入中室,再穿过网膜才能到受体植物的根系,因而受体植物菌根真菌的侵染率就受隔板上空洞的数目、空洞孔径的大小、菌丝穿过隔板的数量及菌丝在土壤中的生长情况等多种因素的影响。本试验中不同处理间菌根真菌的侵染率存在较大的差异(图2)可能与此有关。

菌丝桥传递养分的数量受菌丝桥的数量及供体、受体植株营养状况的影响。菌丝桥形成的数量越多,供体、受体植株养分浓度梯度越大,菌丝桥形成以后传递的养分越多。这在氮、碳的传递上已得到证实^[8,21]。本试验结果发现菌丝桥可以在三叶草植株间传递 ^{32}P ,但受体植株体内 ^{32}P 的放射性强度只有十几个脉冲,强度不大。可能是由于植株间菌丝桥数量较少及供体植株和受体植株磷营养状况差异不够大而引起的。在自然生态条件下,菌丝的生长不会受到象空气隔板这样阻碍因素的限制,因而菌丝桥在磷素传递中的实际作用可能更大。

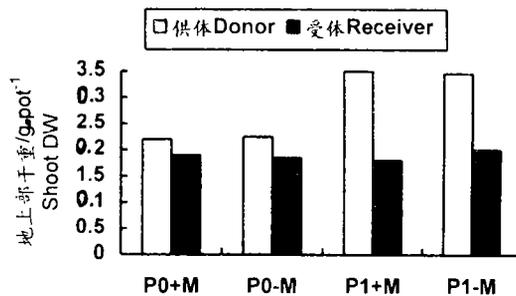


图5 施磷和菌根对三叶草地上部生长的影响
Fig. 5 Effects of P supply and mycorrhiza on shoot growth of red clover plants

在一定条件下,菌根能改善植物的营养状况,促进植物的生长已为众多的试验所证实^[9,10]。尤其是在低磷的土壤上菌根效应则更为重要。本试验两部分受体植株接种菌根真菌后菌根对寄主植物的生长效应不显著。相反,在非同位素试验中接种菌根真菌的受体植株地上部干物重还明显降低,可能由于菌根真菌侵染寄主植物的根系后,菌根真菌作为一个碳水化合物化合物的库与寄主植物根系同时竞争光合产物,反而抑制了寄主植物的生长^[11]。大多数情况下,菌根侵染存在一个最适水平,超过这个水平,寄主植物不但不会受益^[12]甚至其生长会受到抑制^[13]。本试验由于同位素技术本身的限制,同位素试验植物根系的侵染率难以测定,因而无法了解根系的确切情况。菌丝桥传递养分的作用及其机理尚需进一步深入研究。

参 考 文 献

- 1 Chiariello N J, Hickman C, Mooney G A. Endomycorrhizal role for interspecific transfer of phosphorus in a community of annual plants. *Science*, 1982, 217: 941~943
- 2 Francis R, Finlay R D, Read D J. VAM in natural vegetation systems; IV. Transfer of nutrients in inter- and intra-specific combination of host plants. *New Phytol*, 1986, 102: 103~111
- 3 Ritz K, Newman E I. Movement of ³²P between intact grassland plants of the same age. *Oikos*, 1984, 43: 138~142
- 4 Whittingham J, Read D J. VAM in natural vegetation systems; III. Nutrient transfer between plants with mycorrhizal interconnections. *New Phytol*, 1982, 90: 277~284
- 5 Bethlenfalvay G J, Reyes-solis M G, Camel S B, Ferreracerrato R. Nutrient transfer between the root zones of soybean and maize plants connected by a common mycorrhizal mycelium. *Physiol Plant*, 1991, 82: 423~432
- 6 Heap A J, Neoman E I. Links between roots by hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *New Phytol*, 1980, 85: 169~171
- 7 Newman E I, Eason W R, Einssenstat D M, Ramos M I R F. Interaction between plants; the role of mycorrhiza. *Mycorrhiza*, 1992, 1: 47~53
- 8 Read D J, Frances, Finlay R D. Mycorrhizal mycelia and nutrient cycling in plant communities. In: *Ecological Interactions in Soil*. Oxford Blackwell Scientific, 1985, 193~217
- 9 Daft M J, Nicolson T H. Effect of endogone mycorrhizal on plant growth; III. Influence of soluble phosphorus on endophyte and host in maize. *New Phytol*, 1969, 68: 915~952
- 10 Daft M J, Nicolson T H. Effect of endogone mycorrhize on plant growth; IV. Quantitative relationship between the growth of the host and the development of the endophyte in tomato and maize. *New Phytol*, 1972, 71: 282~295
- 11 Douds ir D D, Johnson C R, Koch K E. Carbon cost of the fungal symbiont relative to net leaf P accumulation in a split root VA mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiol*, 1988, 86: 191~496
- 12 Thomson B D, Robson A D, Abott L K. The effect of long-term applications of phosphorus fertilizer on populations of VAM fungi in pastures. *Aust J Agric Res*, 1992, 43: 1131~1142
- 13 Amijee F, Stribley D P, Tinker P B. Soluble carbonhydrates in roots of leek (*Allium porrum*) plants in relation to phosphorus supply and VA mycorrhiza. *Plant Soil*, 1990, 124: 195~198

Phosphorus Transfer via VA Mycorrhizal Hyphae Link between Roots of Red Clover

Zhang Junling Li Xiaolin Yang Zhifu Li Chunjian Zhang Fusuo
(College of Resources and Environment, CAU, Beijing 100094)

Abstract: By ^{32}P -labelled technique, a new system—five compartments with a air gap was designed to examine underground P transfer via VAM hyphae Link between roots of red clover; the central compartment for hyphae growth, two root compartments for growth of donor and receiver plants and two outer ones for water. Compartmentation was accomplished by a $30\mu\text{m}$ nylon net mesh where hyphae can penetrate and grow while plant roots can't. The air gap was put between the donor root compartment and central compartment to prevent ^{32}P transfer from donor plant to receiver plant directly. ^{32}P was mixed into the compartment for donor plants at the beginning of the experiment. The experiment had four treatments; two P levels (P_0, P_1), mycorrhiza and non-mycorrhiza treatment, and each with four repeats. It was shown that ^{32}P radioactivity could be found only in receiver plants with mycorrhiza while none were detected in that of the red clover without mycorrhiza. This proved that the new system can wholly prevent ^{32}P transfer from donor to receiver plants via other means and be used to study the effect of VAM hyphae link on P transfer between plants.

Key words: VA mycorrhiza; red clover; hyphae link; phosphorus; underground nutrient transfer