

混合接种 *Glomus* 与 *Pisolithus* 菌株 对尾叶桉矿质营养吸收的影响*

陈应龙¹⁾ 弓明钦¹⁾ 王凤珍¹⁾ 陈羽¹⁾ Bernie Dell²⁾

(1) 中国林业科学研究院热带林业研究所, 510520, 广州; 2) Murdoch University, Perth WA, 6150, Australia;
第一作者 30 岁, 男, 助理研究员)

摘要 对混合接种 VA 菌根真菌苏格兰球囊霉和 ECM 真菌彩色豆马勃影响尾叶桉苗期矿质营养元素吸收情况进行了研究。接种菌根真菌对苗木吸收 N、P、K 和 B 产生了较大的影响, 主要体现在促进苗木对上述营养元素的吸收和积累。从试验苗木植株营养元素的含量来看, 接种苗木 N、P、K 和 B 分别为未接种苗木相应元素的 3.58~7.00, 2.67~2.89, 2.65~3.18 和 2.78~3.88 倍, 其中混合接种更有利于苗木对矿质营养元素的吸收。但接种菌根真菌对试验苗木各部分营养元素的相对含量(浓度)的影响不同, 且影响其在植株根系及枝叶中的运输和分配。接种这两种菌根真菌还影响苗木根系酸性磷酸酶的活性, 其中混合接种及单接种 ECM 菌的苗木, 其根系磷酸酶活性均高于未接种对照苗。菌根真菌对苗木矿质营养元素及酸性磷酸酶活性的影响, 在一定程度上反映了菌根真菌的接种效应。

关键词 尾叶桉; VA 菌根; 外生菌根; 混合菌根; 矿质营养

分类号 S718.81

桉属(*Eucalyptus*)的许多树种在我国华南及西南地区人工林生产和纸浆材利用上有着重要的地位^[1]。近年来, 随着一些桉树优良树种、种源及家系的引进和大面积推广, 桉树生产得到了进一步的发展, 造林面积剧增。据统计, 1988 年我国有桉树人工林 46.6 万 hm^2 , ‘四旁’植树 15 亿株^[2], 1998 年桉树人工林面积预计可达 60 万 hm^2 , 人工林面积仅次于巴西而跃居世界第 2 位。

国内外众多研究表明, 桉树是菌根营养型树种, 适宜的菌根真菌, 对提高桉树人工林生产力、涵养水源和土壤营养、维持林区生态多样性等方面起着一定的作用^[3~5]。在自然条件下, 桉树根系不仅可以与许多高等真菌形成外生菌根(ECM), 或者与内囊霉科的真菌形成泡囊-丛枝状菌根, 即 VA 菌根, 而且还可以同时与这两种类型的菌根真菌形成混合菌根^[3~7]。桉树外生菌根形态学、生理学、分类学和应用价值等已得到广泛研究, 而桉树 VA 菌根及混合菌根的研究相对较少, 而且起步较晚^[3, 4, 7]。Malajczuk^[8]等和 Boudarga^[9]等, 首先在控制条件下分别成功合成了桉树 VA 菌根和混合菌根。但到目前为止, 人们对这两种类型菌根在桉树林中的实际作用和相对重要性, 以及两种菌根真菌在对根系感染时的相互作用等一系列问题, 仍知之甚

* 本研究为中澳合作 ACIAR9425 项目 1996~1998 年“中国桉树人工林的外生菌根菌”和国家自然科学基金 1997~2001 年“杉木、桉树人工林长期生产力保持机制研究”内容之一。本文得到北京林业大学雷增普教授和北京市农林科学院张美庆研究员的指导和审阅, 特致谢意。

少^[4, 10]。

在对桉树外生菌根和 VA 菌根分别进行研究的基础上, 我们开展了桉树混合菌根的合成研究。初步研究结果表明, 单接种或混合接种 ECM 真菌彩色豆马勃和 VA 菌根真菌苏格兰球囊霉, 均能在尾叶桉根系上成功合成相应的菌根^[11], 菌根真菌接种对苗木的根系活力、伤流量、生长激素、可溶性多糖和氨基酸含量等生理指标产生了影响, 在一定程度上体现了菌根的接种效应, 即促进了苗木的生长和对干物质的积累^[12]。本文报道接种这两种菌根真菌影响苗木矿质营养元素吸收的研究结果。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

1.1.1 菌种 外生菌根菌选用彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius* (Pers.) Coker et Couch) Pt9303 菌株, 由本课题组分离培养; VA 菌根真菌选用苏格兰球囊霉(*Glomus caledonium* (Nicol. & Gerd) Trappe & Gerd) Gc90068 菌株, 由南京土壤所林先贵先生提供。接种所用的菌剂分别采用液体培养和生物繁殖法生产。

1.1.2 试验树种 尾叶桉(*Eucalyptus urophylla* S. T. Blake), 种源号为 14531。

1.1.3 育苗基质 采用消毒的混合基质(由蛭石、泥炭、河砂按照体积比 1.5 : 1 : 2 混匀)。

1.2 方 法

1.2.1 接种方法 待尾叶桉无菌苗长到 3 cm 高左右时进行移苗, 同时进行第 1 次接种。ECM 菌采用菌丝球接种, 每株幼苗接种菌丝球 2~3 粒; VA 菌根菌用孢子菌剂接种。20 d 后, 根据试验设计, 对需要进行混合接种的苗木, 采用注入法进行第 2 次接种。

1.2.2 试验设计 试验设 5 个处理: T1、T3 分别为 VA 菌根菌和 ECM 菌单接种, T2 和 T4 为混合接种(T2 为先接种 VA 菌根菌, 第 2 次接种 ECM 菌; T4 接种顺序与 T2 相反, 即先接种 ECM 菌, 第 2 次接种 VA 菌根菌), T5 为未接种对照。4 个重复, 重复内各处理苗木 10 株, 按完全随机区组设计。

1.2.3 矿质营养元素分析方法 试验苗木在接种后 5 个月时收获, 70 ℃ 烘干后, 分别对苗木植株地下部分(根系)及地上部分(枝茎叶)进行矿质营养元素含量的测定。根据矿质元素对桉树生长的重要性, 选择了 N、P、K 和 B 4 种营养元素^[13]。矿质元素的测定方法, 参照中华人民共和国国家标准《森林土壤分析方法(第八分册)——植物与森林枯枝落叶层分析》。全 N 的测定采用凯氏法(Kjeldahl), 全 P 的测定采用钼锑抗比色法, 全 B 的测定采用灰化-甲亚胺比色法, 植株全 K 的测定采用火焰光度计法。伤流液中 P 的测定是采用磷钼蓝法^[14]。

1.2.4 酸性磷酸酶测定方法 酸性磷酸酶活性分析方法参见参考文献[15, 16]。以苗木的幼嫩侧根为实验材料; 反应体系所用缓冲液为醋酸缓冲液(0.1 mol · L⁻¹, pH 5.4), 测定 405 nm 下的 P-NP(P-nitrophenol)的相应的吸光值, 在 30 ℃ 下 20 min 内形成 1 mmol · L⁻¹ P-NP 为 1 个活性单位。

2 结果与分析

2.1 矿质营养

2.1.1 根系伤流液中无机磷含量 根据试验苗木根系伤流液样品中 P 素的光密度和标准溶

液的浓度, 得出磷素含量的回归方程: $y = -0.0016 + 0.3256x$, 由此计算出各处理苗木伤流液中无机磷的浓度(表 1)。分析结果表明, 接种苗木根系伤流液中磷素含量均高于未接种对照, 4 种接种苗木分别比对照增加了 20.0%, 40.6%, 1.4% 和 31.2%, 其中混合接种苗木 T2 和 T4 根系磷含量相对较高, 说明混合接种更有利于宿主根系对磷素的吸收。

表 1 菌根试验苗根系伤流液中无机磷含量

处 理	T1	T2	T3	T4	T5
伤流液中无机磷含量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	0.751	0.880	0.635	0.825	0.626
比对照增加%	20.0	40.6	1.4	31.2	-

2.1.2 试验苗木矿质元素含量 菌根接种与对照苗木间在相应的矿质元素含量上, 均有显著差异($P = 0.001$), 表现在菌根接种有利于苗木对矿质元素的吸收和积累(表 2); 但不同接种处理对各种矿质元素的浓度及其在根系与枝茎叶中的分配产生的影响不同(表 3)。

表 2 试验苗根系及枝茎叶部分矿质元素总含量

$\text{mg} \cdot \text{株}^{-1}$

处理	根系部分				枝茎叶部分				植株总含量			
	N	P	K	B	N	P	K	B	N	P	K	B
T1	189 b (3.88)	50 a (5.00)	250 b (4.03)	0.023 b (2.88)	528 b (7.64)	195 ab (2.60)	718 ab (2.49)	0.151 a (3.68)	717 b (5.98)	245 a (2.88)	968 b (2.77)	0.174 a (3.55)
T2	206 ab (4.04)	44 a (44.40)	235 b (3.79)	0.028 b (3.50)	634 b (9.19)	202 a (2.69)	877 a (3.05)	0.162 a (3.95)	840 a (7.00)	246 a (2.89)	1 112 a (3.18)	0.19 a (3.88)
T3	218 a (4.27)	41 ab (4.10)	280 a (4.52)	0.033 a (4.13)	256 c (3.71)	194 ab (2.59)	819 a (2.84)	0.135 b (3.29)	474 c (3.96)	235 a (2.76)	1 099 a (3.14)	0.168 a (3.43)
T4	197 ab (3.86)	47 a (4.70)	224 c (3.61)	0.033 a (4.13)	232 c (3.36)	180 b (2.40)	703 ab (2.44)	0.103 b (2.51)	429 c (3.58)	277 a (2.67)	927 b (2.65)	0.136 b (2.78)
T5	51 c (1.00)	10 c (1.00)	62 d (1.00)	0.008 c (1.00)	69 d (1.00)	75 c (1.00)	288 c (1.00)	0.041 c (1.00)	120 d (1.00)	85 b (1.00)	350 c (1.00)	0.049 c (1.00)

注: 括号内数据为矿质元素含量与 T5 对照相应指标的比值; 同一列数据后所跟字母不同者表示差异显著(Duncan's NMT, $P < 0.01$)。

表 3 试验苗根系及枝茎叶部分矿质元素含量

处理	根系部分				枝茎叶部分			
	$\text{N/g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\text{P/g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\text{K/g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\text{B/mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\text{N/g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\text{P/g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\text{K/g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\text{B/mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
T1	5.172 b (11.6)	1.365 a (47.4)	6.841 a (23.2)	6.29 c (-12.8)	7.104 a (14.0)	2.618 a (2.1)	9.667 b (-1.8)	20.33 a (45.2)
T2	5.438 a (17.4)	1.159 b (25.2)	6.204 b (11.7)	7.40 b (2.6)	6.360 b (2.0)	2.027 d (-20.9)	8.797 d (-10.6)	16.29 b (16.4)
T3	4.962 b (7.0)	0.929 bc (0.3)	6.365 b (14.6)	7.58 ab (5.1)	5.807 c (-6.8)	2.273 c (-11.3)	9.613 b (-2.3)	15.81 b (12.9)
T4	4.614 c (-0.4)	1.110 b (19.9)	5.266 d (-5.2)	7.69 a (6.7)	5.442 d (-12.7)	2.364 c (-7.8)	9.208 c (-6.4)	13.48 c (-3.7)
T5	4.635 c	0.926 bc	5.555 c	7.21 c	6.234 b	2.564 b	9.842 a	14.00 c

注: 括号内数据为矿质元素平均浓度比 T5 对照相应指标的增加值%; 同一列数据所跟字母不同者表示差异显著(Duncan's NMT, $P < 0.01$)。

从对 N 的影响来看, 菌根接种苗木植株 N 总含量是未接种对照的 3.58~7.00 倍, 其中, T2 含量最高(表 2)。不同接种方式对苗木地上部分和地下部分 N 含量的影响也有一定的差

异,在根系中,T3苗木N含量最高,是对照的4.27倍,而地上部分,先接种有VA菌根菌的苗木(T2和T1)N含量分别是对照的9.19倍和7.64倍,高于T3和T4。从表3中可以看出,接种有VA菌根真菌的处理苗木(T1和T2),其根系及地上部分N素的浓度均较高;而接种有ECM真菌的T3和T4苗木植株中N的浓度较低,这说明ECM真菌对宿主依赖性程度更大。

4个接种菌根处理对宿主P素含量的影响较大。接种苗木根系及枝茎叶中P含量均显著高于未接种对照(表2)。从植株P素总含量来看,混合接种T2和T4分别是对照的2.89倍和2.67倍,单接种T1和T3分别是对照的2.88倍和2.76倍。另外,接种菌根菌更有利于根系对P的吸收(表2、3)。

从苗木根系中K的含量来看,单接种处理T1和T3苗木根系中K含量相对较高,分别为对照的4.03倍和4.52倍;混合接种处理T2和T4对K的吸收相对较少(表2)。苗木植株中K素总含量的分析结果表明,在4种菌根接种方式中,混合接种T2对苗木吸收K元素的贡献最大,为对照的3.18倍,T4最小,为对照的2.65倍。与未接种对照相比,接种菌根真菌对植株不同部分K浓度的影响有较大的差异(表3),表现在促进了根系对K的积累,而抑制了在枝叶中的积累。

菌根对苗木吸收B素的影响也较大。分析结果表明,接种菌根真菌均能显著地促进苗木对B的吸收(表2)。在根系中,T3和T4含量较高,为对照的4.13倍;而在枝茎叶中恰好相反,T1和T2对B的吸收贡献较大,这一分析结果与表3中B浓度基本相同,说明接种不同的菌根真菌能影响B素在宿主植株体内的运输和分配。

2.2 接种菌根真菌对根系酸性磷酸酶活性的影响

试验苗木根系酸性磷酸酶活性有较大的差异(表4)。混合接种及单接种外生菌根真菌的苗木,其根系酸性磷酸酶活性均高于未接种对照。其中,混合接种苗T2酶活性最高,比对照增加了88.2%;单接种ECM菌苗木T3酶活性仅次于T2。单接种VA菌根真菌苗木根系酸性磷酸酶活性偏低,这一结果有些异常,其原因有待于进一步分析。

表4 尾叶桉试验苗木根系酸性磷酸酶活性

处 理	T1	T2	T3	T4	T5
酶活性/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	0.107	0.256	0.247	0.236	0.136
比T5增加%	-21.3	88.2	81.6	73.5	-

3 结论与讨论

(1)苗木植株N、P、K和B等矿质元素分析结果表明,接种菌根真菌不仅影响苗木矿质元素含量,而且对各种矿质元素在植株体内的运输及分配也有一定的影响。矿质元素含量的变化在一定程度上反映了菌根的接种效应。

接种菌根菌能显著提高植株矿质营养元素的总含量,有利于促进根系对矿质元素的吸收,但各营养元素在苗木不同部分的浓度存在一定的差异,具体表现在接种苗木根系部分含量基本有所增加,而地上部分多数低于对照苗木。接种苗木营养元素总含量的增加,从表面上看是由于苗木生物量的增加引起的,实际上,菌根促进苗木生长的主要功能是促进根系对矿质营养

的吸收,即通过与根系共生的真菌菌丝网络为宿主根系吸收矿质营养^[3,5];尽管由于接种苗木生长速度加快,营养元素的平均浓度不一定表现出显著差异,但苗木营养总含量的增加仍应归功于菌根真菌对矿质元素的吸收。

(2) 菌根对宿主植物的作用,主要是通过影响宿主的营养生理来实现的;营养和水分的改善自然又会影响植物的光合作用。单接种或混合接种菌根真菌影响了宿主根系的营养生理^[12]。P 素对桉树生长有着重要的作用,接种菌根处理能明显提高宿主根系 P 的含量,宿主 P 含量与菌根依赖性 MD 大小有一定的相关性。关于 ECM 和 VA 菌根对矿质元素吸收的影响问题,国内外均有报道^[5,6,13,17]。Adjoud 等研究了 3 种 VA 菌根真菌接种 11 种桉树的接种效果,证实了菌根真菌对桉树苗期营养元素的影响,并认为 P 素不是唯一限制苗木生长的因素^[17]。Lapeyrie^[7]研究表明,在石灰质土壤中混合菌根能降低宿主对钙的吸收,增强宿主的抗逆能力,同时有利于促进宿主对基质中难溶性磷的吸收。

(3) 接种菌根对宿主根系酸性磷酸酶活性也有一定的影响,其中,两种混合接种及单接种 ECM 菌的苗木,其根系酸性磷酸酶活性均高于未接种对照,与国外的有关研究结果一致^[18,19],但单接种 VA 菌根苗木根系酶活性较低。根系磷酸酶活性大小,在一定程度上反映了菌根的接种效应。本试验中发现接种苏格兰球囊霉菌株抑制了根系酶的活性,这种现象可能与分析样品的选取有关,也可能存在其它影响根系磷酸酶活性的因素,其原因有待进一步探讨。

(4) 桉树作为一种重要的速生树种,已在我国南方得到迅速发展。桉树的快速生长对林地土壤肥力的退化可能会产生一定的潜在影响,已引起注意^[20]。菌根真菌能促进林木根系对土壤中营养元素的吸收,尤其是对土壤中难溶性磷的吸收,并能改善根际微生物的组成和活动能力,这无疑为恢复林地土壤肥力和提高桉树人工林生产力提供了一条新的途径。本研究结果表明,混合接种这两种菌根真菌具有一定的应用前景;但筛选适宜于特定树种和土壤条件的菌根真菌(或菌株),探讨合适的接种途径和方法,仍是今后必须开展的重要研究内容。

参 考 文 献

- 1 Bai Jiayu, Gan Siming. *Eucalyptus* plantations in China. In: Reports Submitted to the Regional Expert Consultation on *Eucalyptus*. 1996(2): 23 ~ 32.
- 2 祁述雄. 中国桉树. 北京: 中国林业出版社, 1988. 21.
- 3 Brundrett M, Bourgher N, Dell B, et al. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. Canberra: ACIAR Monograph 32, 1996. 34 ~ 35.
- 4 弓明钦, 陈应龙, 仲崇录. 菌根研究及应用. 北京: 中国林业出版社, 1997. 84 ~ 88.
- 5 Smith S E, Read D J. Mycorrhizal Symbiosis (2nd edition). Cambridge: Academic Press, 1997. 126 ~ 160.
- 6 郭秀珍, 毕国昌. 林木菌根及应用技术. 北京: 中国林业出版社, 1989. 161 ~ 163.
- 7 Lapeyrie F F, Chilvers G A. An endomycorrhizal-ectomycorrhiza succession associated with enhanced growth by *Eucalyptus dumosa* seedlings planted in a calcareous soil. *New Phytol.*, 1985, 100: 93 ~ 104.
- 8 Malajczuk N, Linderman R G, Kough J, et al. Presence of VA mycorrhizae in *Eucalyptus* spp. and *Acacia* sp. and their absence in *Bankia* sp. after inoculation with *Glomus fasciculatus*. *New Phytol.*, 1981, 87: 567 ~ 572.
- 9 Boudarga K, Lapeyrie F, Dexheimer J. A technique for dual VA endomycorrhizal/ectomycorrhizal infection of *Eucalyptus* in vitro. *New Phytol.*, 1990, 114: 73 ~ 76.
- 10 Brundrett M. Mycorrhizas in natural ecosystems. In: Begon M, Fitter A H, Macfadyen A, eds. *Advances in Ecological Research*, Vol. 21. London: Academic Press Limited, 1991. 171 ~ 313.

- 11 Chen Yinglong, Gong Mingqin, Wang Fengzhen, et al. Effect on growth of *Eucalyptus* by inoculation with ECM and VAM fungi. In: Proceedings of IUFRO Conference on Silviculture and Improvement of Eucalypts, Salvador, Brazil, 1997. 174 ~ 179.
- 12 陈应龙, 弓明钦, 王凤珍, 等. 尾叶桉混合菌根营养生理研究. 林业科学研究, 1998, 11(3): 237 ~ 243.
- 13 Dell B, Malajczuk N. Fertilizer requirements for ectomycorrhizal eucalypts in forestry nurseries and field plantings in southern China. In: Brundrett M, Dell B, Malajczuk N, et al. eds. Mycorrhizas for Plantation Forestry in Asia. ACIAR Proceedings, 1994(62): 96 ~ 100.
- 14 张志良. 植物生理学实验手册. 上海: 华东师范大学出版社, 1990.
- 15 Melachlan K D. Effects of drought, aging and phosphorus status on leaf acid phosphatase activity in wheat. Aust. J. Agric. Res., 1984(35): 777 ~ 787.
- 16 叶振邦. 甘蔗不同品种(种)间叶片中酶活性差异的研究. 作物学报, 1987, 13(2): 157 ~ 162.
- 17 李晓林, 张俊伶. VA 菌根与矿质营养. 土壤学报, 1994, 31(增刊): 38 ~ 44.
- 18 Rosendahl S, Sen R. Isozyme analysis of mycorrhizal fungi and their mycorrhiza. In: Norris J R, Read D J, Varma A K, eds. Techniques for Mycorrhizal Research. Academic Press Limited, 1994. 629 ~ 654.
- 19 Hayman D S, Johnson A M, Duddlesdin I. The influence of phosphate and crop species on endogone spores and vesicular-arbuscular mycorrhiza under field conditions. Plant and Soil, 1975, 43: 489 ~ 495.
- 20 Wang Huoran, Zhou Wenlong. Fertilizer and eucalypt plantations in China. In: Peter M A, Mark A A, eds. Nutrition of Eucalypts. CSIRO Publishing, Vic., 1996. 389 ~ 397.

Effect on Nutrient Acquisition of *Eucalyptus urophylla* Inoculated with *Glomus* and/ or *Pisolithus*

Chen Yinglong¹⁾ Gong Mingqin¹⁾ Wang Fengzhen¹⁾ Chen Yu¹⁾ Bernie Dell²⁾

(1) The Research Institute of Tropical Forestry, CAF, 510520, Guangzhou, China;

2) Murdoch University, Perth, WA, 6150, Australia)

Abstract This paper reports the influence on nutrient uptake of *Eucalyptus urophylla* seedlings 5 months after inoculation with *Glomus* and *Pisolithus* isolates alone or in competition in a nursery. Though concentrations of some mineral elements in roots or tops varied according to different fungal treatments, there was a substantial increase of nutrient amount of all elements in inoculated seedlings. Phosphorus content in inoculated seedlings were 2.67 to 2.88 times of the uninoculated ones. The total content of N, K and B in the inoculated seedlings was respectively 3.58 ~ 7.00, 2.65 ~ 3.18 and 2.78 ~ 3.88 folds of those of the uninoculated ones. The results showed that inoculation with *Pisolithus* and/ or *Glomus* isolates affected nutrient uptake and their distribution in parts of seedlings. The two fungal isolates also influenced the acid phosphatase activity in roots.

Key words *Eucalyptus urophylla*; VA mycorrhiza; ectomycorrhiza; dual mycorrhiza; nutrient acquisition