

锌胁迫下外生菌根真菌对巨桉生长的影响

王新阳,刘紫怡,任 颖,唐 明*

(岭南现代农业科学与技术广东省实验室 华南农业大学林学与风景园林学院,广东 广州 510640)

摘 要:以巨桉为试验材料,接种外生菌根真菌(Ectomycorrhizal fungi,ECMF)彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius* 21118),通过构建彩色豆马勃-巨桉共生体系,不同浓度锌胁迫处理 30 d 后对巨桉株高、生物量、根系形态特征、叶绿素含量和叶片 N 含量进行评估。结果表明,低浓度 Zn($200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)促进巨桉生长、根系的发育以及叶片营养元素氮(N)和叶绿素的积累,较高浓度($400\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和高浓度($600\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)Zn 则产生抑制作用;巨桉和彩色豆马勃具有较强的共生能力,接种彩色豆马勃显著改善了巨桉在 Zn 处理下的生长,促进了巨桉叶片的 N 累积,增强了巨桉光合作用;较高浓度和高浓度 Zn 胁迫下,接种彩色豆马勃能够促进巨桉生物量的积累,改善植株根系形态,增加根表面积、根体积、根尖数,促进细根的形成,提高根系对 Zn 的耐受性。研究结果为菌根技术在重金属污染土壤植被恢复的应用提供了理论依据。

关键词:外生菌根真菌;巨桉;锌胁迫;生长量

中图分类号:S718.81

文献标志码:A

文章编号:1001-7461(2023)04-0180-09

Effects of Ectomycorrhizal Fungi on the Growth of *Eucalyptus grandis* Under Zinc Stress

WANG Xin-yang, LIU Zi-yi, REN Ying, TANG Ming*

(Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture, College of Forestry and Landscape Architecture,
South China Agricultural University, Guangzhou 510640, Guangdong, China)

Abstract: *Eucalyptus grandis* was used as material, in which Ectomycorrhizal fungi (*Pisolithus tinctorius* 21118) were inoculated to establish the symbiont system. Then, the established symbionts were subject to Zinc stress. After 30 days of zinc treatment, the seedling height, biomass, root morphological characteristics, chlorophyll content and leaf nitrogen contents of *E. grandis* were measured and evaluated to examine the effects of ectomycorrhizal fungi on the growth of *E. grandis* under Zinc stress. The results showed that low concentration of Zn ($200\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) promoted the growth, root development, nitrogen (N) and chlorophyll accumulation in the leaves of *E. grandis*, while high concentration of Zn (400 or $600\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) presented inhibited effects. Strong symbiont effect was observed between *E. grandis* and *P. tinctorius*. And under the Zn treatment, inoculation of *P. tinctorius* significantly improved the growth, promoted the leaves N accumulation, and enhanced the photosynthesis of *E. grandis*. For *E. grandis* under higher and the highest concentration of Zn stress, inoculation of *P. tinctorius* could promote the accumulation of biomass, improve root morphology, increase root surface area, root volume and number of root tips, promote the formation of fine roots, and improve root tolerance to Zn. This study provides a theoretical basis for mycorrhizal vegetation restoration in heavy metal-contaminated soils.

Key words: ectomycorrhizal fungus; *Eucalyptus grandis*; zinc stress; growth

收稿日期:2022-05-27 修回日期:2022-08-10

基金项目:广州市科技计划重点项目(201904020022);岭南现代农业科学与技术广东省实验室科研项目(NZ2021025);国家自然科学基金(32071639)。

第一作者:王新阳。研究方向:森林微生物。E-mail:wangxy940624@163.com

* 通信作者:唐 明,教授,博士生导师。研究方向:森林微生物。E-mail:tangmingyl@163.com

植物生长所需的微量元素锌(Zn)在植物生长和代谢调节过程中发挥着重要作用^[1],但浓度过高会引起植物中毒,影响植物生长^[2]。菌根的形成可缓解重金属对植物产生的毒害^[3-4]。Hachani等^[5]接种外生菌根真菌须腹菌(*Rhizopogon* sp.)改善了地中海松(*Pinus halepensis*)气体交换速率和水分利用效率,增强对铅(Pb)、Zn和镉(Cd)的耐受性。Tang等^[6]研究发现,接种土生空团菌(*Cenococcum geophilum*)、彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius*)、红蜡蘑(*Laccaria laccata*)和淡紫红粘滑菇(*Hebeloma vinosophyllum*)能够促进黑松(*Pinus thunbergii*)对养分的吸收,增加生物量,降低过量铜(Cu)和Cd对黑松的毒害作用。Cu胁迫下,接种彩色豆马勃显著促进黑松幼苗的生长,降低土壤中可交换态Cu的含量,减缓Cu对植物的毒害^[7]。Zn胁迫下,接种丛枝菌根真菌异形根孢囊霉(*Rhizophagus irregularis*)显著提高巨桉(*Eucalyptus grandis*)锌转运蛋白(EgMTP6)的表达量^[8],异形根孢囊霉(*Rhizophagus irregularis*)与外源脱落酸协同作用通过改变Zn和内源脱落酸的分布,促进刺槐(*Robinia pseudoacacia*)生长,增强其抗重金属能力^[9]。

桉树(*Eucalyptus* spp.)是世界三大速生人工林树种之一,生物量大、速生丰产、适应性强,是我国重要纸浆材、用材林树种^[10],在我国南方具有十分重要的战略地位。研究表明,桉树为可形成外生菌根和丛枝菌根的树种^[11-15],在抗重金属方面也发挥重要作用^[3]。已有研究表明,彩色豆马勃能够与巨桉形成外生菌根,促进了巨桉的生长并提高其对重金属锰(Mn)的抗性^[16]。白色豆马勃(*Pisolithus albus*)促进镍(Ni)胁迫下蓝桉(*Eucalyptus globulus*)根系和枝条的生长,并降低根部Ni积累^[17]。Wang等^[3]研究发现丛枝菌根真菌对巨桉金属离子Zn的转录代谢和营养吸收相关基因具有调控作用。但是Zn胁迫下外生菌根真菌(Ectomycorrhizal fungi, ECMF)对巨桉生长的影响尚未开展研究。本研究建立巨桉-彩色豆马勃共培养体系,对Zn胁迫下菌根和非菌根植株的生长特性、根系形态特征、叶绿素和叶片氮含量等进行了评估,探究外生菌根真菌彩色豆马勃对Zn胁迫下巨桉生长的影响,为ECMF提高巨桉Zn耐受性提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌种:彩色豆马勃(*P. tinctorius*)菌株由中国林业科学研究院热带林业研究所陈羽研究员提供,分离于广东肇庆西南,桦树(*Betula* sp.)林下。

用改良MMN培养基^[18]进行扩繁培养(25℃、黑暗、倒置),使用打孔器(直径为0.8 cm)打取菌落边缘活跃菌丝作为接种剂,不含菌丝体的菌饼作为对照^[19]。

供试植物:巨桉(*Eucalyptus grandis*)种子购于广东省广州市汇森林业有限公司,选取颗粒饱满、大小一致的种子用于盆栽试验。用5%次氯酸钠溶液对种子进行表面消毒20 min,然后使用无菌水冲洗5次。将冲洗干净的种子浸泡在无菌水中,于恒温培养箱中(25℃、黑暗)放置过夜,使巨桉种子在萌发前充分吸水备用。

1.2 试验方法

1.2.1 巨桉-彩色豆马勃共生体系构建 外生菌根真菌接种巨桉参考Burgess等^[20]的方法并稍作修改。选取生长旺盛的菌落,用灭菌后的打孔器在菌落边缘打取菌饼(直径0.8 cm),接种于表面铺有玻璃纸的改良Kottke固体培养基^[21]中央,25℃倒置暗培养5~8 d,待菌丝萌发后,将巨桉种子播种于含有菌饼的培养皿中,距菌饼2 cm,对照组播种在不含菌丝体的菌饼培养基中,距菌饼2 cm,每个培养皿播种12粒种子。将培养皿在25℃黑暗环境中放置3 d,待种子萌发。

将培养皿转移至人工气候箱中,光周期为白天16 h,25℃,光强6 000 lx;晚上8 h,20℃。培养7 d后,将每个培养皿中的幼苗稀疏至6株,并使主根朝向真菌菌落,以便形成菌根化幼苗。20 d后,将体外培养的巨桉幼苗移栽至高温高压灭菌后的沙盆中(8 cm×8 cm×10 cm,2 kg细沙),同时从幼苗旁取少量菌丝体(约20 mg)放入接菌处理的幼苗旁。每日淋浇10 mL去离子水,保持沙土湿润,每周淋浇20 mL改良Kottke营养液,在人工气候箱中培养15 d备用。

1.2.2 试验设计 设计接种处理和Zn处理的双因素交互试验。接种处理包含接种*P. tinctorius*和不接菌处理。Zn处理包括0、200、400 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和600 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 4种浓度的氯化锌溶液(ZnCl_2)^[22]。每个处理设置10个生物重复。将 ZnCl_2 用蒸馏水溶解,添加到改良Kottke营养液中,0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为不另外添加Zn的等量改良Kottke营养液。巨桉生长期间,每天正常浇水(10 mL),每周淋浇含有不同浓度Zn的改良Kottke营养液(30 mL,达到沙土最大持水量)。30 d后收样,收获前使用叶绿素测定仪(方科,FK-YL02)测定幼苗顶端完全展开且健康叶片的相对叶绿素含量(SPAD值)和叶片N含量。收获后测定株高、定殖率以及根系形态特征,分别记录植株地上部分和地下部分鲜重,统计植株生物量。

1.2.3 ECMF 定殖率测定 参考 Agerer 等^[23]描述的菌根特征测定 ECMF 定殖率。每种处理随机选择 3 株生物重复,随机选取细根 20 段,剪成 1 cm 长短的根段,使用光学显微镜观察每一根段的菌根数。按下列公式计算菌根定殖率:菌根定殖率(%)=菌根侵染的根段数/检查的总根段数×100%。

1.2.4 根系形态特征测定 将巨桉幼苗用纯净水冲洗根部,然后将根部置于预冷的 20 mmol·L⁻¹ 乙二胺四乙酸二钠溶液中浸泡 30 min,去除多余 Zn 离子,再用去离子水冲洗干净,用吸水纸吸干表面水分。使用 WinRHIZO 根系扫描仪测定总根长、根表面积、根体积、根平均直径、根尖数和根分叉数等指标。

1.2.5 生物量测定 对巨桉地上部分和地下部分的称取鲜重进行称量。然后将鲜样剪碎、在液氮中研磨成粉末,在-80℃超低温冰箱中保存备用。称取 30 mg 粉末,在 60℃烘箱中烘至恒重,称量干重,通过干湿比得到植株地上部分和地下部分总干重。计算菌根依赖性(mycorrhizal dependence, MD)^[24]:MD(%)=(菌根植株各部分干重/非菌根植株各部分干重)×100%。

1.3 数据处理与分析

使用 Microsoft Excel 2019 数据统计分析软件计算试验参数的平均值和标准偏差。使用 IBM SPSS statistics 25.0 进行数据的显著性分析和双因素方差分析(Two-way ANOVA, $P<0.05$)检测 Zn 和 ECMF 以及两者的交互关系对所有变量的显著差异性。使用 Origin 2018 作图软件进行作图。

2 结果与分析

2.1 Zn 处理对菌根形成的影响

彩色豆马勃能够与巨桉共生,但不同浓度 Zn 处理对共生的影响不同。由表 1 可知,Zn 处理降低了彩色豆马勃的定殖率,定殖率在 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Zn 处理之间的差异不显著;400 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的处理组与 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 相比差异显著($P<0.05$)。这表明低浓度 Zn(200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对菌根共生体形成的影响较小,较高浓度 Zn(400 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)和高浓度 Zn(600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)对菌根共生体的形成有较大影响。

2.2 Zn 处理和接种彩色豆马勃对巨桉株高的影响

与 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Zn 相比,Zn 浓度为 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时显著促进接菌和不接菌植株株高的增加($P<0.05$),Zn 表现出微量营养元素的促生作用。随着 Zn 浓度的增加,接菌组株高呈现先上升后下降的趋势,且对巨桉株高存在显著影响,与不接菌处

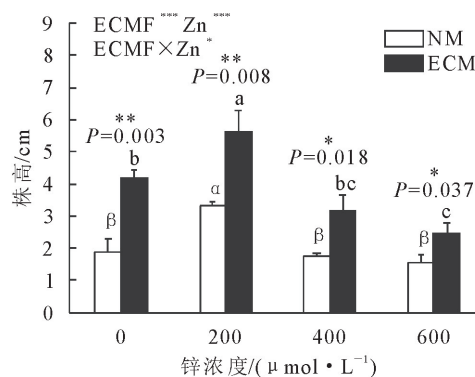
理组相比,接菌处理均显著提高了各个 Zn 浓度下巨桉的株高($P<0.05$),随着 Zn 浓度增加(0、200、400、600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),增幅分别为 115.52%、69%、75.93%和 57.45%(图 1)。这说明 Zn 胁迫下接种彩色豆马勃可以促进巨桉的高生长。

表 1 不同浓度 Zn 对菌根定殖率的影响

Table 1 Effects of different concentrations of Zn on mycorrhizal colonization rate

锌浓度/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	定殖率(%)
0	34.17±3.44a
200	32.50±4.79a
400	24.17±7.31b
600	23.33±3.73b

注:数据为平均值±标准差($n=6$),同一列中不同字母表示不同 Zn 浓度间菌根定殖率在 $P<0.05$ 水平上差异显著。下同。 $F=6.111$, $P=0.004$ 。



NM 代表不接菌处理,ECM 代表接菌处理。不同希腊字母表示非菌根植株在不同 Zn 浓度间差异显著,不同英文字母表示菌根植株在不同 Zn 浓度间差异显著。* 表示同一 Zn 浓度下,菌根与非菌根植株之间差异显著, $P<0.05$,** 表示差异极显著, $P<0.01$,*** 表示差异极显著, $P<0.001$ 。下同。

图 1 Zn 处理和接种彩色豆马勃对巨桉株高的影响

Fig. 1 Effects of Zn treatment and inoculation of *P. tinctorius* on plant height of *E. grandis*

2.3 Zn 处理和接种彩色豆马勃对巨桉总生物量的影响

由图 2 可知,与 0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Zn 相比,200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Zn 处理下,接菌和不接菌处理下总生物量均显著提高($P<0.05$),增幅分别为 83.50%和 35.43%。但在 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Zn 处理下,接菌和不接菌处理下总生物量均显著降低($P<0.05$)。但接菌与不接菌相比,在 400 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时接菌处理降低 63.17%,不接菌处理降低 46.47%;在 600 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时接菌和不接菌处理下降幅分别为 79.34%和 79.24%。接种彩色豆马勃均显著提高巨桉的总生物量($P<0.05$),随着 Zn 浓度的增加,总生物量分别提高 119.58%、197.51%、51.10%和 118.49%。在不同 Zn 浓度处

理中,菌根依赖性均>100%,说明巨桉对彩色豆马勃具有较强的依赖性,且 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,依赖性最大(表 2),进一步说明接种菌根真菌对巨桉生物量的正向效应。

表 2 不同浓度 Zn 处理下的菌根依赖性

锌浓度/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	菌根依赖性(%)
0	219.68 \pm 6.55b
200	297.56 \pm 6.69a
400	151.62 \pm 14.82c
600	219.88 \pm 29.73b

注:数据为平均值 \pm 标准差($n=3$)。 $F=23.895, P<0.001$ 。

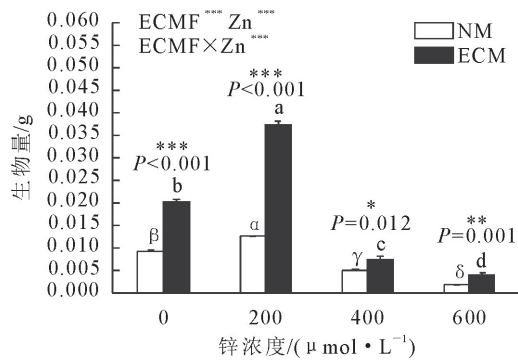


图 2 Zn 处理和接种彩色豆马勃对巨桉生物量的影响

Fig. 2 Effects of Zn treatment and inoculation of *P. tinctorius* on biomass of *E. grandis*

2.4 Zn 处理和接种彩色豆马勃对巨桉地上、地下部分生物量的影响

图 3A—图 3D 显示,200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn 处理下,接菌处理巨桉地上、地下部分鲜重和干重均显著高于 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组($P<0.05$),增幅分别为地上鲜重 52.20%,地下鲜重 56.25%,地上干重 214.55%,地下干重 167.36%,而不接菌处理下地下部分干重和鲜重差异不显著。说明 200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn 的添加对巨桉的生长具有一定的促进作用,接菌处理下更为显著,主要促进了巨桉地下部分生物量的累积。与 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组相比,Zn 浓度 400 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 600 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,显著降低了接菌和不接菌组地上、地下部分的鲜重和干重($P<0.05$)。总的趋势是接种彩色豆马勃提高巨桉地上部分和地下部分的鲜重和干重,且在 0、200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 600 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn 处理下差异显著($P<0.05$),接种后巨桉对 Zn 的利用性和耐受性增强。

图 3E、图 3F 显示,与不接种处理相比,接种处理上调各浓度地上、地下部分的干湿比,但在 600 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn 处理下地上部分干湿比和 400 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、600 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn 处理下地下部分干湿比受

菌根影响较小。与 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 相比,低浓度 Zn (200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)上调植株地上、地下部分的干湿比,中浓度(400 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)和高浓度(600 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) Zn 下调地上、地下部分的干湿比,不同 Zn 浓度与无 Zn 组间差异显著($P<0.05$)。但 400 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 600 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn 处理之间干湿比无明显差异,这表明 Zn 胁迫(400 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、600 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)下,植株对水分的吸收和干物质的积累趋于平衡。

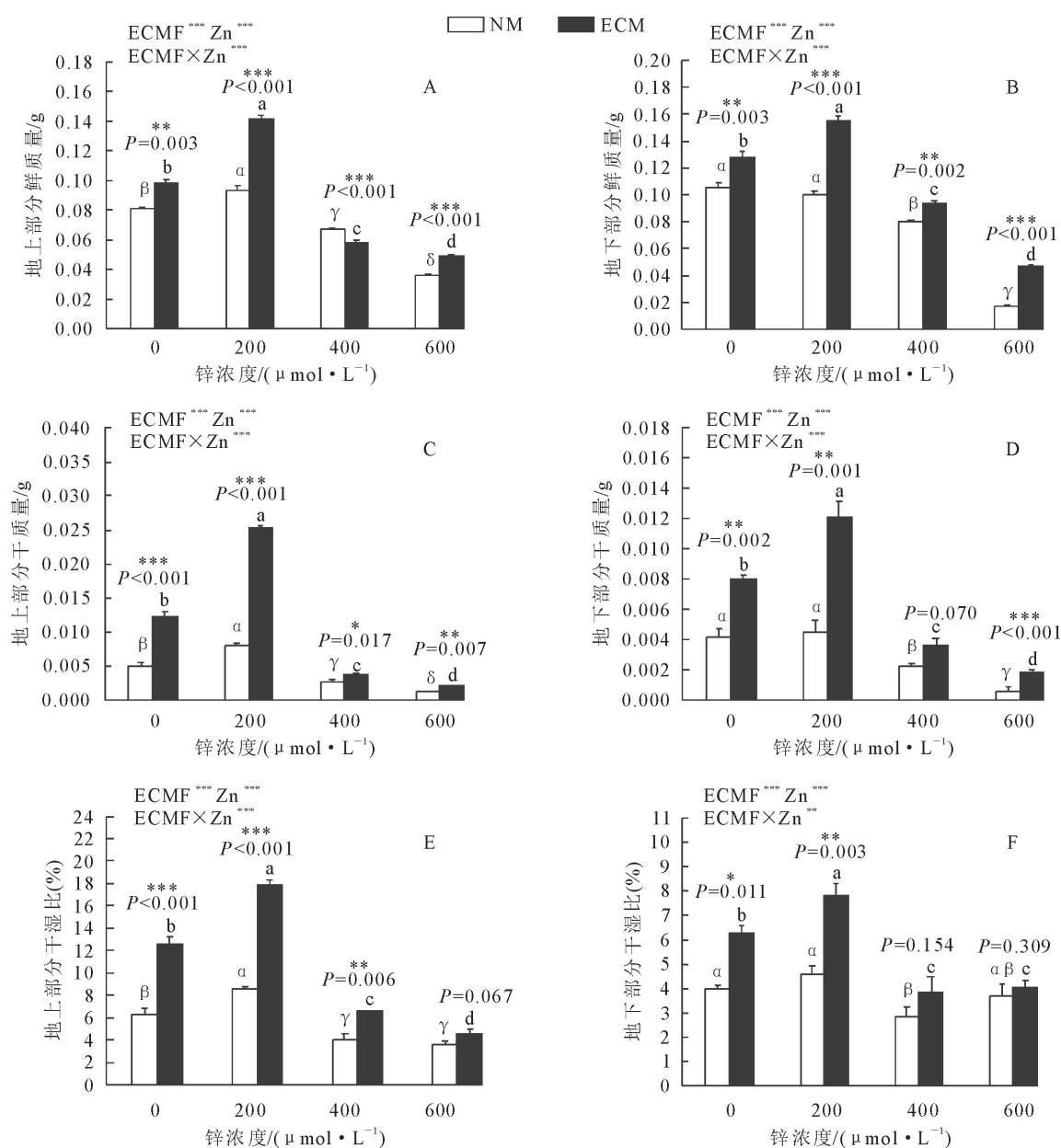
2.5 Zn 处理和接种彩色豆马勃对巨桉根系形态特征的影响

低浓度 Zn(200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)能够显著促进巨桉根系生长,中浓度(400 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)和高浓度(600 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)Zn 对巨桉根系生长具有抑制作用(图 4)。具体表现为,接菌处理下,与 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时相比,200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,总根长、根系表面积、根体积、根尖数、根分叉数分别增加了 22.94%、56.67%、32.21%、27.27%、24.74%,400 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,总根长、根系表面积、根体积、根直径分别减少了 24.28%、35.42%、48.08%、26.97%,600 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,这种抑制作用更加显著。

在不同 Zn 浓度处理下,接种后巨桉总根长、根尖数、根分叉数、根直径、根体积、根系表面积显著高于未接种(600 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时总根长和根直径除外, $P<0.05$)。相比于不接菌处理,200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn 浓度处理下的巨桉总根长、根体积、根直径、根尖数和根分叉数分别提高了 41.63%、97.45%、45.30%、52.24%和 154.65%;400 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,总根长、根系表面积、根体积、根直径和根分叉数增幅分别为 84.30%、93.18%、123.15%、47.30%和 55.29%。600 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,接种组根尖数、根分叉数、根体积和根系表面积显著高于未接种组,即使根直径显著低于未接种组($P<0.05$)。

2.6 Zn 处理和接种彩色豆马勃对巨桉叶绿素和叶片 N 含量的影响

图 5 显示,接种彩色豆马勃和 Zn 处理改变了巨桉相对叶绿素和叶片 N 含量。其中,与不接种处理相比,接种彩色豆马勃均可提高不同 Zn 处理下的叶片相对叶绿素和 N 含量,随着 Zn 浓度的增加,叶绿素含量增幅分别为 114.06%、85.18%、71.58%和 77.23%,叶片 N 含量增幅分别为 15.26%、62.25%、36.27%和 39.02%。与 0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时相比,200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时接种和不接种植株叶片相对叶绿素和 N 含量显著上升,随着 Zn 浓度的增加,叶片相对叶绿素和 N 含量逐渐降低。表明 Zn 胁迫下接种彩色豆马勃提高了巨桉相对叶绿素和叶片 N 含量。



A:地上部分鲜重;B:地下部分鲜重;C:地上部分干重;D:地下部分干重;E:地上部分干重比;F:地下部分干重比。

图3 Zn处理和接种彩色豆马勃对巨桉地上和地下部分生物量的影响

Fig. 3 Effects of Zn treatment and inoculation of *P. tinctorius* on biomass of up-ground and above ground parts of *E. grandis*

3 结论与讨论

3.1 ECMF对巨桉生长量的影响

锌(Zn)是植物必需的微量元素,是植物体内数千种蛋白质的重要组成部分,但过量 Zn 造成植物萎蔫、枯黄,影响生长^[25]。重金属不仅会抑制根的生长,还会阻碍许多生理过程,特别是营养物质的吸收。而根系生长状况是影响植物耐受逆境胁迫的重要因素之一^[26]。本研究中,接种彩色豆马勃和低浓度均能促进巨桉的生长,高浓度 Zn 抑制巨桉生长,但接种外生菌根真菌可以缓解这种抑制作用。菌根真菌能够增加植物对 P、N、矿物质养分和水的吸

收,从而促进植物生长或是增强植物抗逆性^[27]。菌根植物通过产生较高的生物量稀释锌浓度到较低的浓度,对锌胁迫具有更好的耐受性。辜夕容等^[28]研究发现双色蜡蘑(*Laccaria bicolor*)能促进 Al 胁迫下马尾松(*Pinus massoniana*)幼苗的生长,其生物量比非菌根苗高 69.9%。接种了小球孢盘菌(*Sphaerosporella brunnea*)的旱柳(*Salix miyabeana* clone SX67),其生物量相比于不接种显著增加了^[29],*P. tinctorius* 对于森林土壤中 Zn、Cu 和 Al 毒性的改善能力已经被相关研究报道^[30]。综上所述,外生菌根真菌在促进植物生长和缓解重金属毒害方面具有重要作用。

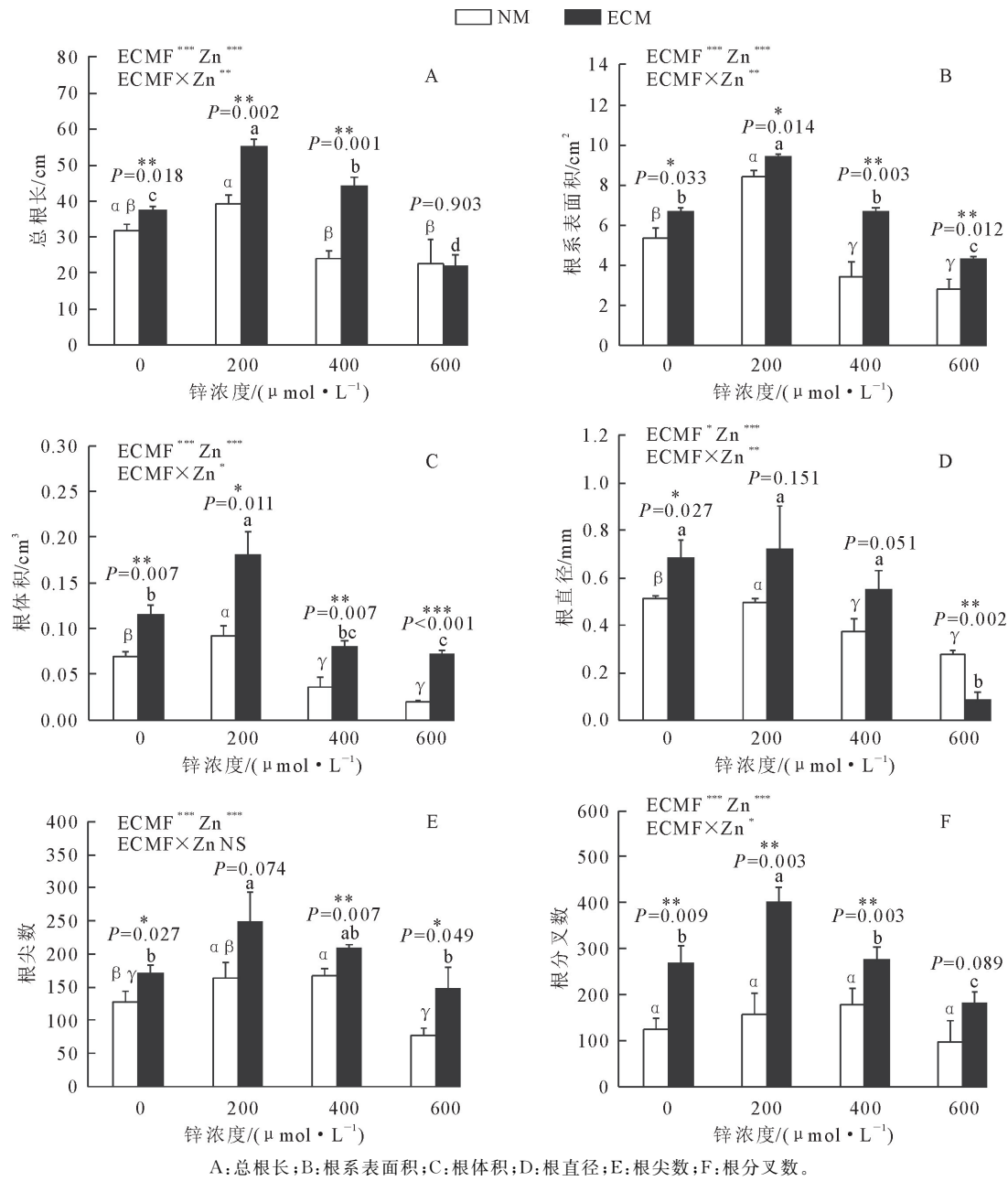


图 4 锌处理和接种彩色豆马勃对巨桉根系形态特征的影响

Fig. 4 Effects of Zn treatment and inoculation of *P. tinctorius* on root architecture of *E. grandis*

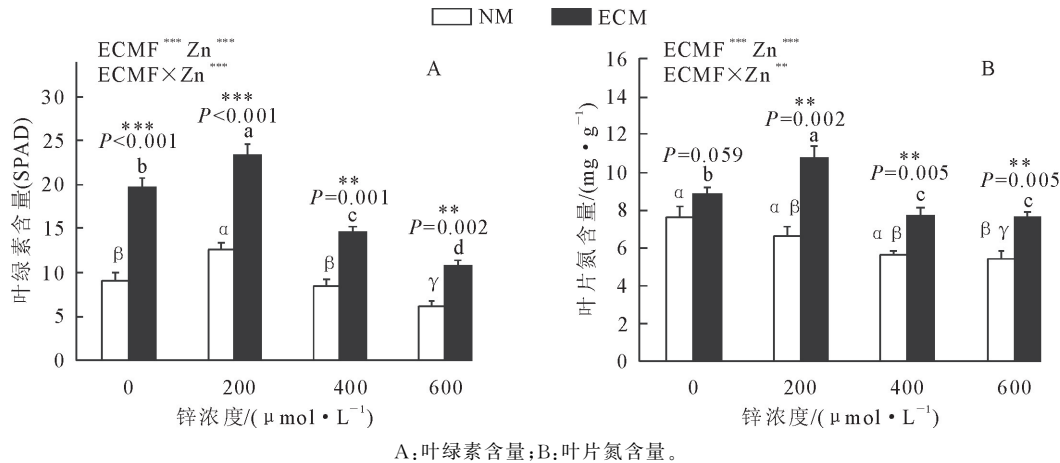


图 5 Zn 处理和接种彩色豆马勃对巨桉叶绿素和叶片氮含量的影响

Fig. 5 Effects of Zn treatment and inoculation of *P. tinctorius* on chlorophyll and foliar nitrogen content of *E. grandis*

桉树在非菌根条件下,随 Zn 浓度的升高生物量呈先升高后降低的趋势,在 Zn 浓度为 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,生物量最高,表明这个锌浓度对桉树的生长具有促进作用,说明桉树自身对 Zn 具有一定的耐受性。在接种条件下,Zn 浓度 $200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,接种效应也是最大的,说明在植物可耐受范围内接种 ECMF 能够更好地促进植物生长。

Zn 处理对地上部分和地下部分干湿比的影响程度不同,对地上部分的影响较大,且受 ECMF 的影响。Zn 浓度的升高导致了根的干重下降与天蓝遏蓝菜(*Nocca caerulea*)在 Zn 浓度 0.8 mM 时处根系干重显著下降结果一直^[31]。较高浓度 Zn 处理下,接种 ECMF 依然显著促进地上部分的干湿比,而对地下部分无明显影响。这说明,低浓度 Zn 处理时,ECMF 可能更多地促进植物营养元素的吸收,积累干物质;高浓度 Zn 处理时,相比较于营养元素,ECMF 可能更多地促进植物对水分的吸收,并转移至地上部分,增强植物生命活动以应对重金属胁迫。对桉树接种 AMF 也有相似的结果^[32],说明无论是接种 AMF 还是 ECMF 都能够促进桉树的生物量,同时降低 Zn 的吸收和积累,通过“植物稀释效应”缓解 Zn 对桉树的毒害。

3.2 ECMF 对巨桉根系构型的影响

ECMF 对林木的根系形态特征有很大的影响^[33]。在本研究中,接种彩色豆马勃时,表现为总根长、根系表面积、根体积、根直径、根尖数和根分叉数显著增加。低浓度 Zn 处理下,各根系形态特征参数呈上升的趋势,而高浓度 Zn 胁迫降低了根系形态特征参数。ECMF 可缓解这种抑制作用,显著扩大根系表面积和根体积,促进巨桉根系在重金属土壤中的发育。不同的是,Zn 胁迫下接菌植株根直径显著降低,随着锌浓度的升高根尖数和根分叉数呈先升高后降低的趋势,同时,根尖数和根分叉数受 ECMF 显著上调。这是由于过量的 Zn 抑制了初生根的伸长并诱导了侧根的形成^[34-35]。侧根和根尖数的增加会促进 ECMF 的定殖,同时 ECMF 又显著提高了根尖数和根分叉数。Gamalero 等^[36]发现接种 *Glomus mosseae* BEG12 能够增加根的总表面积和体积、根尖数量和分枝程度,提高吸收和运输营养物质的能力。表明 ECMF 可以改变根的构型,更多地刺激宿主植物形成细根,增加根尖数和根分叉数,增加根的有效吸收面积,提高对养分和水分的吸收能力,提高植物耐 Zn 性。

3.3 ECMF 对巨桉叶绿素和叶片氮积累的影响

ECMF 是林木最重要的菌根真菌类型,在营养吸收、循环与转化过程中起着重要的作用^[37]。植物

体内氮素主要存在于蛋白质和叶绿素中,同时,叶绿素的含量与叶片中 N 的含量有很密切的关系^[38]。在本研究中,高 Zn 胁迫降低了植物叶绿素和叶片 N 的含量,但是接种 ECMF 能够提高植物中叶绿素和叶片中 N 的含量。同样,接种能够提高 N 的转运吸收,提高桉树对 Zn 的耐受性^[3]。说明 ECMF 和 AMF 能够促进植物 N 的吸收,缓解 Zn 对于植物的危害。

综上所述:1)桉树自身具有一定的重金属耐受性,低浓度 Zn($200 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)促进巨桉生长、根系的发育以及叶片营养元素(N)和叶绿素的积累,较高浓度($400 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)和高浓度($600 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)Zn 则产生抑制作用;2)巨桉对彩色豆马勃具有较强的依赖性,能够显著促进植物在 Zn 胁迫下的生长,增加桉树的生物量,从而降低 Zn 在桉树体内的浓度,来增加桉树的耐受性;3)较高浓度和高浓度 Zn 胁迫下,接种彩色豆马勃能够改善植株根系形态,促进细根的形成,提高植物 N 的吸收和转运能力,增加植物光合作用过程中叶绿素的含量,缓解 Zn 对植物的危害。因此外生菌根可以作为微生物和植物联合修复重金属污染的应用提供理论依据。

参考文献:

- [1] SINCLAIR S A, KRÄMER U. The zinc homeostasis network of land plants[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 2012, 9: 1823.
- [2] KOLAJ-ROBIN O, RUSSELL D, HAYES K A, et al. Cation diffusion facilitator family: structure and function[J]. *FEBS Letters*, 2015, 589(12): 1283-1295.
- [3] WANG X Y, LIANG J W, LIU Z Y, et al. Transcriptional regulation of metal metabolism and nutrient absorption-related genes in *Eucalyptus grandis* by arbuscular mycorrhizal fungi at different zinc concentrations[J]. *BMC Plant Biology*, 2022, 22: 76.
- [4] 冯欢, 豆青, 王海华, 等. 2 种外生菌根真菌的铅耐受性及相关机制[J]. *西北林学院学报*, 2017, 32(2): 188-196.
FENG H, DOU Q, WANG H H, et al. Lead tolerance of two ectomycorrhizal fungi and related mechanisms[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2017, 32(2): 188-196. (in Chinese)
- [5] HACHANI C, LAMHAMED M S, ABIDINE A Z E, et al. Water relations, gas exchange, chlorophyll fluorescence and electrolyte leakage of ectomycorrhizal *Pinus halepensis* seedlings in response to multi-heavy metal stresses (Pb, Zn, Cd) [J]. *Microorganisms*, 2022, 10(1): 57.
- [6] TANG Y, SHI L, ZHONG K, et al. Ectomycorrhizal fungi may not act as a barrier inhibiting host plant absorption of heavy metals[J]. *Chemosphere*, 2019, 215: 115-123.
- [7] 温祝桂, 王杰, 汤阳泽, 等. 外生菌根真菌彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius*)辅助植物修复重金属 Cu 污染土壤的应用潜力[J].

- 生物技术通报, 2017, 33(4): 149-156.
- WEN Z G, WANG J, TANG Y Z, *et al.* The application potential of ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* assisting plant in phytoremediation of Cu-contaminated soils[J]. Biotechnology Bulletin, 2017, 33(4): 149-156. (in Chinese)
- [8] 韩丽娜, 谢贤安, 陈辉, 等. 巨桉金属耐受蛋白 EgMTP6 的分子特征与功能研究[J]. 林业科学, 2022, 58(5): 1-13.
- HAN L N, XIE X A, CHEN H, *et al.* Molecular characteristics and function analyses of EgMTP6 in *Eucalyptus grandis*[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2022, 58(5): 1-13. (in Chinese)
- [9] LOU X, ZHANG X Y, ZHANG Y, *et al.* The synergy of arbuscular mycorrhizal fungi and exogenous abscisic acid benefits *Robinia pseudoacacia* L. growth through altering the distribution of Zn and endogenous abscisic acid[J]. Journal of Fungi, 2021, 7(8): 671.
- [10] 叶绍明, 温远光, 张慧东. 连栽桉树人工林土壤理化性质的主分量分析[J]. 水土保持通报, 2010, 30(5): 101-105.
- YE S M, WEN Y G, ZHANG H D. Principal component analysis of soil physical and chemical properties in successive *Eucalyptus* plantation[J]. Bulletin of Soil and Water Conservation, 2010, 30(5): 101-105. (in Chinese)
- [11] 江瑶, 莫晓勇, 邓海燕, 等. 巨桉人工林外生菌根真菌群落组成及多样性[J]. 西北林学院学报, 2020, 35(6): 153-159.
- JIANG Y, MO X Y, DENG H Y, *et al.* Composition and diversity of ectomycorrhizal fungal community associated with *Eucalyptus grandis* plantation[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2020, 35(6): 153-159. (in Chinese)
- [12] 梁京威, 王思佳, 胡文涛, 等. 桉树内生真菌二型伞霉的培养条件优化[J]. 西北林学院学报, 2020, 35(3): 142-148.
- LIANG J W, WANG S J, HU W T, *et al.* Optimized culture conditions of the endophytic fungus *Umbelopsis dimorpha* from *Eucalyptus* roots[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2020, 35(3): 142-148. (in Chinese)
- [13] 李佳雨, 林家怡, 裴晨羽, 等. 桉树种植对林地土壤丛枝菌根真菌群落结构及多样性的影响[J]. 生态学报, 2019, 39(8): 2723-2731.
- LI J Y, LIN J Y, PEI C Y, *et al.* Diversity and structure of the soil arbuscular mycorrhizal fungal community are altered by *Eucalyptus* plantations[J]. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(8): 2723-2731. (in Chinese)
- [14] 王思佳, 赖文珍, 谢贤安, 等. 桉树根系共生真菌的分离与鉴定[J]. 西北植物学报, 2018, 38(8): 1553-1561.
- WANG S J, LAI W Z, XIE X A, *et al.* Isolation and identification of symbiotic fungi in *Eucalyptus* roots[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2018, 38(8): 1553-1561. (in Chinese)
- [15] 赖文珍, 王思佳, 胡文涛, 等. 华南主要树木丛枝菌根真菌物种多样性调查研究[J]. 西北林学院学报, 2018, 33(6): 171-179.
- LAI W Z, WANG S J, HU W T, *et al.* Investigation on species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi occurring in the main tree species in Southern China[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2018, 33(6): 171-179. (in Chinese)
- [16] CANTON G C, BERTOLAZI A A, COGO A J D, *et al.* Biochemical and ecophysiological responses to manganese stress by ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* and in association with *Eucalyptus grandis*[J]. Mycorrhiza, 2016, 26(5): 475-487.
- [17] JOURAND P, DUCOUSSO M, REID R, *et al.* Nickel tolerant ectomycorrhizal *Pisolithus albus* ultramafic ecotype isolated from nickel mines in New Caledonia strongly enhance growth of the host plant *Eucalyptus globulus* at toxic nickel concentrations[J]. Tree Physiology, 2010, 30(10): 1311-1319.
- [18] MARX D H. Influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria[J]. Phytopathology, 1969, 59: 153-163.
- [19] 刘紫怡, 胡文涛, 陈辉, 等. 锌胁迫对彩色豆马勃体内锌的分布和活性形态及其抗氧化系统的影响[J]. 菌物学报, 2021-11-29. (网络首发)
- LIU Z Y, HU W T, CHEN H, *et al.* Effects of zinc stress on the antioxidant system and the distribution and form of zinc of *Pisolithus tinctorius* [J]. Mycosystema, 2021-11-29. (in Chinese)
- [20] BURGESS T, DELL B, MALAJCZUK N. Variation in mycorrhizal development and growth stimulation by 20 *Pisolithus isolates* inoculated on to *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden[J]. New Phytologist, 1994, 127(4): 731-739.
- [21] KOTTKE I, GUTTENBERGER M, HAMPP R, *et al.* An in vitro method for establishing mycorrhizae on coniferous tree seedlings[J]. Trees, 1987, 1(3): 191-194.
- [22] 李磊, 罗浚凤, 谭琳山, 等. 锌胁迫对桉树疏基物质含量及抗氧化酶活性的影响[J]. 基因组学与应用生物学, 2020, 39(2): 693-698.
- LI L, LUO J F, TAN L S, *et al.* Effects of zinc stress on the contents of sulfhydryl compounds and the activities of antioxidant enzymes in *Eucalyptus*[J]. Genomics and Applied Biology, 2020, 39(2): 693-698. (in Chinese)
- [23] AGERER R. Fungal relationships and structural identity of their ectomycorrhizae[J]. Mycological Progress, 2006, 5(2): 67-107.
- [24] MENGE J A, JOHNSON E L V, PLATT R G. Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes[J]. New Phytologist, 1978, 81(3): 553-559.
- [25] DONNER E, RYAN C G, HOWARD D L, *et al.* A multi-technique investigation of copper and zinc distribution, speciation and potential bioavailability in biosolids[J]. Environmental Pollution, 2012, 166: 57-64.
- [26] TESTE F P, JONES M D, DICKIE I A. Dual-mycorrhizal plants: their ecology and relevance[J]. New Phytol., 2020, 225(5): 1835-1851.
- [27] KOIDE R T, MOSSE B. A history of research on arbuscular mycorrhiza[J]. Mycorrhiza, 2004, 14(3): 145-163.
- [28] 辜夕容, 倪亚兰, 江亚男, 等. 接种双色蜡蘑对酸性铝胁迫下马尾松幼苗生长、养分和铝吸收与分布的影响[J]. 林业科学, 2018, 54(2): 170-178.
- GU X R, NI Y L, JIANG Y N, *et al.* Effects of *Laccaria bicolor* on growth, uptake and distribution of nutrients and aluminum of *Pinus massoniana* seedlings under acid aluminum exposure[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2018, 54(2): 170-178. (in Chinese)

- [29] DAGHER D J, PITRE F E, HIJRI M. Ectomycorrhizal fungal inoculation of *Sphaerosporella brunnea* significantly increased stem biomass of *Salix miyabeana* and decreased lead, tin, and zinc, soil concentrations during the phytoremediation of an industrial landfill[J]. *Journal of Fungi*, 2020, 6(2): 87.
- [30] CAIRNEY J, CHAMBERS S. Interactions between *Pisolithus tinctorius* and its hosts: a review of current knowledge[J]. *Mycorrhiza*, 1997, 7: 117-131.
- [31] ANNA D, KOZHEVNIKOVA I V, SEREGIN F, et al. Zinc accumulation and distribution over tissues in *Noccaea caerulea* in nature and in hydroponics: a comparison[J]. *Plant Soil*, 2017, 411: 5-16.
- [32] 廖好婕. 丛枝菌根真菌作用下桉树对土壤中 Pb, Zn 和 Cd 的耐受机理研究[D]. 南宁: 广西大学, 2014.
- [33] CRANE S, BARKAY T, DIGHTON J. The effect of mercury on the establishment of *Pinus rigida* seedlings and the development of their ectomycorrhizal communities[J]. *Fungal Ecology*, 2012, 5(2): 245-251.
- [34] ZHANG P, SUN L, QIN J, et al. cGMP is involved in Zn tolerance through the modulation of auxin redistribution in root tips[J]. *Environmental & Experimental Botany*, 2018, 147: 22-30.
- [35] ROOSENS N H, LEPLAE R, BERNARD C V. Variations in plant metallothioneins: The heavy metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* as a study case[J]. *Planta*, 2005, 222: 716.
- [36] GAMALERO E, TROTTA A, MASSA N, et al. Impact of two fluorescent pseudomonads and an arbuscular mycorrhizal fungus on tomato plant growth, root architecture and P acquisition[J]. *Mycorrhiza*, 2004, 14(3): 185-192.
- [37] 张小龙, 张洪, 张香, 等. 外生菌根菌剂对白皮松幼苗生长效应研究[J]. *林业科学研究*, 2005(2): 133-136.
- ZHANG X L, ZHANG H, ZHANG X, et al. Study on the effects of ectomycorrhizal preparation on seedling growth of *Pinus bungeana* [J]. *Forest Research*, 2005(2): 133-136. (in Chinese)
- [38] 宋微, 吴小芹. 外生菌根真菌对‘NL-895 杨’光合作用的影响[J]. *西北植物学报*, 2011, 31(7): 1474-1478.
- SONG H, WU X Q. Effect of ectomycorrhizal fungi on photosynthesis of poplar NL-895 [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2011, 31(7): 1474-1478. (in Chinese)

(上接第 148 页)

- [20] WANG H, WANG J, MUJUMDAR A S, et al. Effects of postharvest ripening on physicochemical properties, microstructure, cell wall polysaccharides contents (pectin, hemicellulose, cellulose) and nanostructure of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) [J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 118: 106808.
- [21] 罗白玲, 马丽娜, 韩璐, 等. 基于细胞壁特性改变的猕猴桃果实软化机制研究[J]. *食品科技*, 2021, 46(11): 42-48.
- LUO B L, MA L N, HAN L, et al. Study on the softening mechanism of kiwifruit fruit based on changes in cell wall properties[J]. *Food Science and Technology*, 2021, 46(11): 42-48. (in Chinese)
- [22] 廖云霞, 冉自强, 王丹, 等. γ -氨基丁酸处理对桃果实冷藏期间细胞壁代谢及冷害的影响[J]. *食品科技*, 2017, 42(11): 50-56.
- LIAO Y X, RAN Z Q, WANG D, et al. Effect of γ -amino butyric acid treatments on cell wall metabolism and chilling injury in peaches during the refrigerated storage[J]. *Food Science and Technology*, 2017, 42(11): 50-56.
- [23] TILAHUN S, CHOI H R, PARK D S, et al. Ripening quality of kiwifruit cultivars is affected by harvest time[J]. *Scientia Horticulturae*, 2020, 261: 108936.
- [24] ALBERTINI M, CARCOUET E, PAILLY O, et al. Changes in organic acids and sugars during early stages of development of acidic and acidless citrus fruit[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(21): 8335-8339.
- [25] 余克强, 孟浩, 曹晓峰, 等. 近红外光谱对贮藏期猕猴桃不同深度果肉色泽的变化研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2020, 40(7): 2240-2245.
- YU K Q, MENG H, CAO X F, et al. Near-Infrared spectroscopy for analyzing changes of pulp color of kiwifruit in different depths[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2020, 40(7): 2240-2245. (in Chinese)
- [26] ZHANG L H, LI S F, LIU X H, et al. Effects of ethephon on physicochemical and quality properties of kiwifruit during ripening[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2012, 65: 69-75.
- [27] 王阳光, 席玛芳, 陆胜民, 等. 采后处理对青梅果实叶绿素含量及叶绿体活性氧代谢的影响[J]. *中国食品学报*, 2003, 3(2): 1-5.
- WANG Y G, XI Y F, LU S M, et al. Effects of postharvest treatment on chlorophyll content and activated oxygen metabolism of chloroplast in Green Mume[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2003, 3(2): 1-5. (in Chinese)
- [28] YI J X, KEBEDE B T, GRAUWET T, et al. A multivariate approach into physicochemical, biochemical and aromatic quality changes of purée based on Hayward kiwifruit during the final phase of ripening[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2016, 117: 206-216.