

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*

54 (7): 786–792; 4 July 2014

ISSN 0001–6209; CN 11–1995/Q

http://journals.im.ac.cn/actamicrocn

doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.2014.07.009

## 外生菌根真菌对土壤钾的活化作用

张亮<sup>1,2</sup>, 王明霞<sup>1</sup>, 张薇<sup>1</sup>, 黄建国<sup>1</sup>, 袁玲<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>西南大学资源环境学院, 重庆 400716

<sup>2</sup>南京师范大学泰州学院生物技术与化学工程学院, 江苏 泰州 225300

**摘要:** 【目的】外生菌根真菌是森林生态系统中的重要组成成分, 与木本植物的根系形成菌根, 参与树木养分吸收。【方法】试验在液培条件下, 以土壤为钾源, 利用我国西南地区分离的牛肝菌 (*Boletus* sp., *Bo* 07)、松乳菇 (*Lactarius delicious*, *Ld* 03)、彩色豆马勃 (*Pisolithus tinctorius*, *Pt* 715) 和内蒙古大青山分离的土生空团菌 (*Cenococcum geophilum*, *Cg* 04) 为材料, 研究了它们的生长、钾吸收、氢离子和有机酸分泌, 以及土壤钾的变化。【结果】结果表明, *Bo* 07、*Ld* 03 和 *Pt* 715 的生物量、含钾量和吸收量显著高于 *Cg* 04, 说明在长期缺钾的环境中, 外生菌根真菌经过“物竞天择”可能进化出适应低钾和较强的吸钾能力。以土壤为钾源培养菌根真菌, 培养液中的钾浓度显著提高, 故外生菌根真菌可促进土壤钾的溶解。在外生菌根真菌的培养液中, 分别检测到苹果酸、丁二酸和柠檬酸, 均检测到草酸和乙酸。*Bo* 07、*Ld* 03 和 *Pt* 715 显著提高土壤交换性钾含量, *Bo* 07 和 *Ld* 03 还显著降低矿物结构钾含量, 说明外生菌根真菌不同程度地活化了土壤无效钾, 分离自南方的菌株 *Bo* 07、*Ld* 03 和 *Pt* 715 总体上大于分离自北方的菌株 *Cg* 04。此外, 土壤矿物结构钾分别与总有机酸和草酸分泌量呈极显著负相关 ( $r_{\text{有机酸}} = -0.989^{**}$ ,  $r_{\text{草酸}} = -0.950^*$ ,  $n = 5$ ), 与培养液 pH 值呈显著正相关 ( $r = 0.916^*$ ,  $n = 5$ ), 故外生菌根真菌分泌的氢离子和有机酸尤其是草酸可能活化土壤无效钾。【结论】供试外生菌根真菌能不同程度的活化土壤无效钾, 其活化能力可能与分泌氢离子和有机酸尤其是草酸密切相关。

**关键词:** 外生菌根真菌, 土壤, 钾, 活化

**中图分类号:** S154.3      **文章编号:** 0001-6209 (2014) 07-0786-07

钾是树木生长的必需大量元素之一。我国西南地区的森林土壤主要分布于山区, 土层瘠薄, 高度风化, 严重缺钾。此外, 森林一般不施肥, 活化利用土壤无效钾对于树木营养十分重要。

外生菌根真菌是森林生态系统中的重要组成成分。它们与木本植物形成菌根之后, 单位重量的根系所吸收的钾高于普通根系<sup>[1-2]</sup>。桉树和松树也因

形成菌根而使增加钾含量<sup>[3]</sup>。此外, 外生菌根真菌吸收钾离子的  $K_m$  值很低, 故能有效吸收土壤中极低浓度的钾离子<sup>[4]</sup>。在培养基中分别加入垚石和金云母作为钾源, 发现外生菌根真菌能利用其层间钾和晶格钾, 这说明外生菌根真菌具有利用某些无效钾的能力<sup>[5]</sup>。有研究表明, 外生菌根真菌能分泌多种低分子有机酸, 降低培养液 pH 值, 进而活化利用

基金项目: 国家自然科学基金 (40771112, 41171215)

\* 通信作者。Tel: +86-23-68251249; E-mail: lingyuanh@aliyun.com

作者简介: 张亮 (1987–), 男, 安徽阜阳人, 硕士, 主要从事环境微生物的研究。E-mail: liangzai0061@126.com

收稿日期: 2013-10-09; 修回日期: 2014-01-24

土壤无效钾<sup>[6]</sup>。在土壤中, 外生菌根真菌是一种根际微生物, 能够分泌草酸、乙酸、酒石酸、柠檬酸等, 直接作用于长石、云母、花岗岩等含钾矿物中的铁、铝、钙、镁离子, 分解释放钾离子, 供植物吸收利用<sup>[7-8]</sup>。

通常认为, 外生菌根活化土壤中的无效钾是因为外延菌丝数量多, 分布广泛, 表面积大, 与土壤紧密接触, 益于交换吸收<sup>[9-10]</sup>。但是, 在有效钾极低的森林土壤中, 上述观点难于充分解释外生菌根真菌促进木本植物吸收钾的机理。为此, 本试验以土壤为钾源, 液培外生菌根真菌, 研究了它们活化土壤无效钾的机理, 旨在为外生菌根真菌在林业生产中的应用提供更多的有益信息。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

供试菌株保存于西南大学资源环境学院微生物实验室, 共 4 株。它们分别是牛肝菌 (*Boletus* sp.) *Bo* 07 和松乳菇 (*Lactarius deliciosus*) *Ld* 03, 分别采自于重庆市金佛山和缙云山马尾松林下的强酸性土壤 (pH 4.0 - 4.2, 有效钾 17.4 mg/kg), 地处北亚热带; 土生空团菌 (*Cenococcum geophilum*) *Cg* 04, 采自于内蒙古大青山油松森林中性土壤 (pH 6.5 - 7.5, 有效钾 87.6 mg/kg), 地处温带; 彩色豆马勃 (*Pisolithus tinctorius*) *Pt* 715, 采自四川西昌桉树林下的微酸性红壤 (pH ≤ 5.9, 有效钾 24.5 mg/kg), 属于干热河谷气候。在 25 □°C 的条件下, 采用 Pachlewsk 固体培养基暗培养供试菌株 14 d 后备用。培养基组成为 (g/L): 0.5 酒石酸铵、1.0 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、0.5 MgSO<sub>4</sub>、20 葡萄糖、20 琼脂、0.1 维生素 B<sub>1</sub>、1.0 mL/L 微量元素混合液 [mg/L: 8.45 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>、5 MnSO<sub>4</sub>、6 FeSO<sub>4</sub>、0.625 CuSO<sub>4</sub>、2.77 ZnCl<sub>2</sub> 和 0.27 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>], pH 5.5。

供试土壤为侏罗纪紫色泥岩发育的、尚未充分风化的紫色石骨子土, 有效钾含量较低, 全钾含量较高。蒸汽灭菌后的土壤 pH 值 7.45、全钾 22.45 g/kg、有效钾 70.33 mg/kg、有机质 4.52 g/kg。风干土壤, 磨细过 100 目筛, 取 1.0000 g 土壤置于两端开口的塑料管 (直径 × 长 = 1 cm × 2 cm) 中部, 然后两端塞入玻璃纤维, 将土壤夹在中间, 再用孔径为 0.22 μm 微孔滤膜密封两端, 水分子、无机离子、低

分子有机酸等均可自由通过微孔滤膜, 但可防止土壤进入溶液和菌丝进入土壤, 121°C 蒸汽灭菌装有土壤的塑料管 120 min 备用。

试验用有机酸标样为色谱纯, 其余试剂均为分析纯。精确称取草酸、柠檬酸、苹果酸、丁二酸、乙酸各 100 mg, 用流动相溶解并定溶于 100 mL 容量瓶中, 配置成 1.0 g/L 的有机酸的标准混合溶液, 再用流动相将标准溶液分别稀释至 0.01、0.02、0.04、0.06、0.08 和 0.10 g/L 备用。

### 1.2 试验设计

取 150 mL 三角瓶, 加入 20 mL 用 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 代替 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 的 Pachlewsk 液体培养基, 再加 1 个装有土壤的灭菌塑料管作为钾源, 蒸汽灭菌 (121 □°C, 30 min), 冷却。接种一块直径为 6 mm 的圆形固体菌块; 不接种的液体培养基为对照, 余同接种处理, 试验设置 12 次重复。25 □°C 静置暗培养 28 d, 备测有关项目。

### 1.3 测定项目与方法

过滤收集菌丝, 去离子水洗净, 烘干测定生物量。用硫酸—过氧化氢消化菌丝后, 火焰光度计法测定消化液中的钾含量<sup>[11]</sup>。收集滤液, 用 PHS-3C 精密酸度计测定 pH 值, 火焰光度计测定钾浓度, 高效液相色谱仪 (日本 HITACHI 公司生产) 测定有机酸含量 (样品先经过酸化处理)。

高效液相色谱测定有机酸的色谱条件: Diode Array L-7455 紫外检测器, Ion-300 有机酸分析专用柱 (Phenomenex, Torrance, CA, USA), 流动相为 2.5 mmol/L 硫酸, 流速 0.5 mL/min; 进样量 20 μL, 紫外检测波长 210 nm, 柱温 35°C, 压力 450 psi。测定的有机酸包括草酸、柠檬酸、苹果酸、丁二酸、乙酸, 其保留时间 (min) 依次是 9.57、11.52、13.31、15.95、20.72 (图 1)。

取出塑料管中的土壤, 风干, 依次用蒸馏水、1 mol/L 醋酸铵和 1 mol/L 沸硝酸提取水溶性钾、交换性钾和缓效钾, 残余土壤再用氢氧化钠 450°C 熔融, 获得矿物结构钾。用火焰光度计测定各提取溶液及土壤熔融液中的钾<sup>[12]</sup>。

### 1.4 数据处理

用 Excel2003 对试验数据进行基本计算, SPSS18.0 进行统计分析, 不同处理间的差异显著性用单因素方差分析进行比较, 使用 Pearson 法进行双因素相关分析。

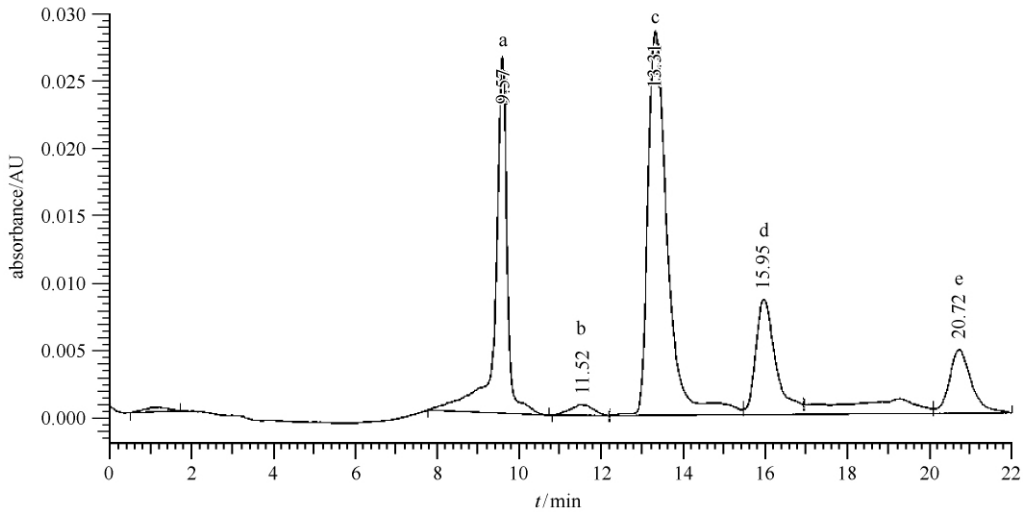


图 1. 有机酸标准色谱图

Figure 1. Standard chromatogram of organic acids. a: oxalate; b: citrate; c: malate; d: succinic acid; e: acetate.

## 2 结果和分析

### 2.1 外生菌根真菌的生物量及钾吸收

表 1 可见, 培养 28 d 之后, 4 株外生菌根真菌的生长速率差异显著, 生物量变化于 29.37 mg/flask

(*Cg* 04) – 67.58 mg/flask (*Bo* 07) 之间。此外, 外生菌根真菌的菌丝钾含量 *Ld* 03 (6.06 mg/g·DW) > *Bo* 07 (5.42 mg/g·DW) > *Pt* 715 (4.21 mg/g·DW) > *Cg* 04 (3.04 mg/g·DW); 钾吸收量 *Bo* 07 最高, *Ld* 03 次之, *Pt* 715 第三, *Cg* 04 最低。

表 1. 外生菌根真菌的生物量及钾含量和吸收量

Table 1. Fungal biomass, K concentration and accumulation in fungal hyphae grown *in vitro*

treatment	biomass/ (mg/flask)	c (K) / [mg/ (g·DW) ]	K/accumulation (μg/flask)
<i>Bo</i> 07	67.58 ± 2.58a	5.42 ± 0.52b	366.28 ± 6.58a
<i>Cg</i> 04	29.37 ± 2.17d	3.04 ± 0.48d	89.28 ± 5.78d
<i>Ld</i> 03	50.38 ± 1.94b	6.06 ± 0.41a	305.30 ± 7.44b
<i>Pt</i> 715	44.25 ± 2.10c	4.21 ± 0.56c	186.29 ± 6.85c

In each column, date followed by different letters are significantly different at  $P = 0.05$  (Fisher test).

### 2.2 培养液 pH、有机酸及钾含量

图 2 可见, 培养 28 d 之后, 外生菌根真菌显著降低培养液 pH, 但菌株不同, 培养液 pH 降幅也不一样。接种 *Ld* 03, 培养液的 pH 仅 3.35, 降幅最大; 接种 *Cg* 04, 培养液的 pH 为 4.52, 降幅最小; 其余培养液的 pH 变化于 3.50 – 4.50 之间。

在液体培养基中, 检测到草酸、苹果酸、丁二酸、乙酸、柠檬酸等 5 种有机酸 (表 2)。在不接种外生菌根真菌的培养液中 (对照), 也检测到少量草酸和乙酸, 但含量极低, 可忽略不计。值得注意的是, 外生菌根真菌因菌株不同而分泌的有机酸种类和数量也不一样。在 4 株外生菌根真菌的培养液中, 均检测到草酸和乙酸, 其含量显著高于对照; *Ld* 03 的培养液中检测到苹果酸; *Ld* 03 和 *Pt* 715 的培养液中

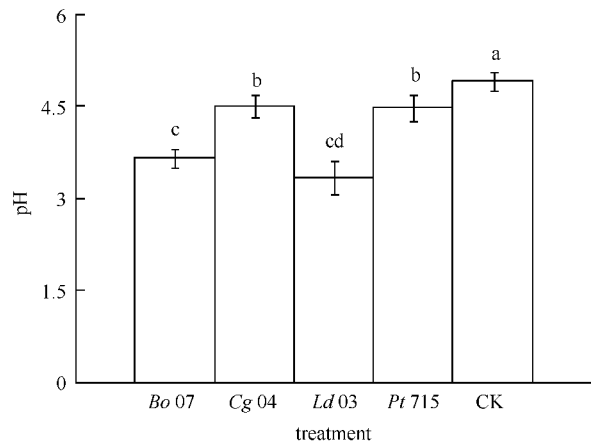


图 2. 培养基中 pH 的变化

Figure 2. The changes in pH in liquid culture mediums. Different letters indicate significant differences at  $P = 0.05$ .

检测到了二酸; *Bo 07* 和 *Ld 03* 的培养液中检测到柠檬酸。从有机酸的总量看, *Bo 07* 的分泌量最高, *Ld 03* 次之, *Pt 715* 居第三, *Cg 04* 最低。其中, 草酸占有机酸重量的 54.31% - 89.24%。

在培养液中, 含钾量对照最低, 仅 1.39 mg/L;

*Cg 04* 与对照相似, 为 1.65 mg/L; *Ld 03* 和 *Pt 715* 显著高于对照, 变化于 1.91 mg/L - 1.99 mg/L 之间; *Bo 07* 又显著高于 *Ld 03* 和 *Pt 715*, 达到 2.59 mg/L (图 3)。

表 2. 液体培养基中有机酸含量

Table 2. The contents of organic acids in the liquid culture mediums (mg/L)

treatment	oxalate	malate	succinate	acetate	citrate	total content
CK	3.05 ± 0.64d	ND	ND	1.09 ± 0.21d	ND	4.14 ± 0.78e
<i>Bo 07</i>	35.45 ± 1.85a	ND	ND	4.32 ± 0.46bc	4.95 ± 0.56a	44.72 ± 2.02a
<i>Cg 04</i>	18.57 ± 1.24bc	ND	ND	2.24 ± 0.37c	ND	20.81 ± 1.75d
<i>Ld 03</i>	24.12 ± 1.15b	2.06 ± 0.45a	0.41 ± 0.07a	5.49 ± 0.55b	3.01 ± 0.42ab	35.09 ± 2.56b
<i>Pt 715</i>	13.85 ± 1.05c	ND	0.49 ± 0.09a	11.16 ± 0.89a	ND	25.50 ± 2.24c

ND indicates not detected. In each column, date followed by different letters are significantly different at  $P = 0.05$  (Fisher test).

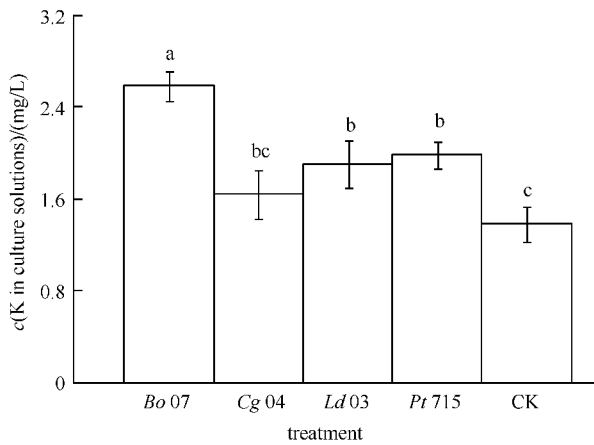


图 3. 培养液中的含钾量

Figure 3. Contents of K in culture solutions / (mg/L). Different letters indicate significant differences at  $P = 0.05$ .

### 2.3 土壤含钾量

培养外生菌根真菌 28 d 之后, 土壤中的水溶性、交换性、缓效钾和矿物结构钾的含量及变化见表 3。其中, 土壤水溶性钾略有升降, 但与对照无显著差异。 *Bo 07*、*Ld 03* 和 *Pt 715* 显著提高土壤交换性钾含量, 比对照增加了 34.29% - 58.82%, 但培养 *Cg 04* 对土壤交换性钾含量无显著影响。培养外生菌根真菌后, 土壤缓效钾的增幅因菌株不同而异, *Bo 07*、*Cg 04* 和 *Ld 03* 的增幅达到显著水平, 比对照增加 22.78% - 26.73%。此外, 培养 *Bo 07* 和 *Ld 03* 显著降低土壤矿物结构钾含量, 分别比对照降低了 335.74 mg/kg 和 432.87 mg/kg, 但培养 *Cg 04* 和 *Pt 715* 对土壤结构钾含量无显著影响。

表 3. 土壤钾含量的变化

Table 3. The changes of K pools in soils / (mg/kg)

treatment	water-soluble K	exchangeable K	slow effective K	mineral K
CK	1.68 ± 0.06a	67.39 ± 2.06c	168.33 ± 3.21c	22210.99 ± 18.74a
<i>Bo 07</i>	1.75 ± 0.08a	90.50 ± 2.58ab	211.67 ± 4.01a	21778.12 ± 15.21b
<i>Cg 04</i>	1.74 ± 0.04a	79.16 ± 2.18bc	206.67 ± 3.89ab	22083.47 ± 20.01ab
<i>Ld 03</i>	1.40 ± 0.10ab	107.03 ± 2.56a	213.33 ± 3.45a	21875.25 ± 18.42b
<i>Pt 715</i>	1.61 ± 0.08ab	93.80 ± 2.88ab	188.33 ± 3.98bc	22020.87 ± 16.28ab

In each column, date followed by different letters are significantly different at  $P = 0.05$  (Fisher test).

### 2.4 各因素的相关分析

表 4 可见, 土壤矿物结构钾与培养液中的草酸、pH 及有机酸总浓度呈显著或极显著相关, 相关系数分别为:  $r = -0.950^*$ ,  $r = 0.916^*$ ,  $r = -0.989^{**}$

( $n = 5$ )。外生菌根真菌草酸分泌量与土壤缓效钾及有机酸分泌总量也呈显著正相关, 相关系数依次是  $r = 0.892^*$ ,  $r = 0.961^{**}$ , ( $n = 5$ )。

表 4. 试验各因素的相关系数

Table 4. Coefficients among experimental factors

potassium form	WSK	EK	SEK	mineral K	oxalate	TOA	pH
WSK	1.000						
EK	-0.718	1.000					
SEK	-0.201	0.687	1.000				
Mineral K	0.220	-0.770	-0.817	1.000			
Oxalate	0.008	0.610	0.892*	-0.950*	1.000		
TOA	-0.171	0.775	0.855	-0.989**	0.961**	1.000	
pH	0.524	-0.849	-0.830	0.916*	-0.835	-0.879*	1.000

WSK = Water soluble K; EK = Exchangeable K; SEK = Slow effective K; TOA = Total organic acids; \* and \*\* show that correlations are significant at  $P = 0.05$  and  $P = 0.01$ , respectively.

### 3 讨论

在可溶性钾受限条件下, *Bo 07*、*Ld 03* 和 *Pt 715* (源于西南地区微酸-强酸性缺钾森林土) 的菌丝生物量、含钾量和吸收量显著高于分离自北方内蒙古大青山的 *Cg 04*。据报道, 在正常含有  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  的 *Pachlewski* 培养基中, *Cg 04* 与 *Ld 03* 和 *Pt 715* 的生物量无显著差异<sup>[13]</sup>, 故 *Cg 04* 利用土壤难溶性钾的能力可能低于分离自南方的菌株。在西南地区的酸性和强酸性土壤中, 有效钾含量较低<sup>[14]</sup>, 分离的供试南方菌株可能已进化出适应低钾和较强的吸钾能力。外生菌根真菌与木本植物形成外生菌根之后, 外延菌丝将吸收的养分供给寄主植物<sup>[15]</sup>, 从而促进菌根依赖性植物的生长和钾的吸收<sup>[16-17]</sup>。

在土壤中, 钾主要以无机态存在, 包括速效钾、缓效钾和无效钾(矿物结构钾), 它们之间互相转化。在培养外生菌根真菌之后, 培养液含钾量显著高于对照(不接种), 由于土壤是培养液中钾的唯一来源, 说明培养液含钾量的增加必然来自于土壤钾的溶解, 外生菌根真菌具有活化土壤无效钾的能力。

外生菌根真菌显著降低培养液 pH 值, 至少降低了 0.41 个单位, 即氢离子浓度增加 3 倍以上。由于氢离子直径为  $(1.6 - 1.7) \times 10^{-15}$  m, 小于钾离子, 故氢离子能进入 2:1 型含钾矿物的晶层, 取代释放其中的钾到土壤溶液中, 提高有效性<sup>[18]</sup>。因此, 培养液 pH 值与土壤矿物结构钾呈显著正相关 ( $r = 0.916^*$ ,  $n = 5$ )。培养外生菌根真菌之后, 有机酸的分泌总量比对照增加了 4.0 - 9.8 倍, 并与土壤矿物结构钾含量呈显著负相关 ( $r = -0.989^{**}$ ,  $n = 5$ ),

说明有机酸可能参与土壤矿物钾的溶解释放。在北欧的森林土壤溶液中, 检测到高达 1.0 mmol/L 的有机酸, 如草酸、丁二酸、甲酸、乙酸和柠檬酸等。利用显微切片技术结合染色观察发现, 在土壤中的矿物和岩石表面不仅存在大量的微孔, 而且充满了外生菌根真菌的菌丝, 菌丝顶端的有机酸尤其是草酸和乙酸的浓度可能极高。若外生菌根真菌菌丝体产生的乙酸和草酸达到 2.0 mmol/L 的浓度, 完全可以 0.15 - 3.5 mm/a 的速率溶解 2:1 型含钾矿物, 所释放的养分足已满足森林植被对钾、钙、镁等营养元素的需要<sup>[19]</sup>。Welch 等(1999)指出, 钾细菌能够分泌草酸、柠檬酸、苹果酸等低分子有机酸, 与土壤矿物中的铁、铝、钙、镁发生络合作用, 分解矿物释放钾离子<sup>[20]</sup>, 说明低分子有机酸在外生菌根真菌与钾细菌的解钾过程中发挥着相似的作用<sup>[21]</sup>。

在外生菌根真菌分泌的有机酸中, 以草酸数量最多。与其它低分子有机酸相比, 草酸络合钙、镁、铁、铝的能力最强,  $[\text{Al}(\text{C}_2\text{O}_4)_3]^{3-}$  和  $[\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)_3]^{3-}$  的稳定常数分别为 16.3 和 20.8, 容易与土壤含钾矿物晶格中的钙、镁、铁、铝等离子发生络合反应, 风化分解土壤含钾矿物, 释放钾离子, 进而向树木提供钾营养<sup>[22-23]</sup>。因此, 培养液中的草酸含量与土壤缓效钾呈显著正相关 ( $r = 0.892^*$ ,  $n = 5$ ), 与土壤矿物结构钾呈显著负相关 ( $r = -0.950^*$ ,  $n = 5$ )。说明外生菌根真菌分泌的草酸对于活化土壤无效钾至关重要。

总之, 供试外生菌根真菌能不同程度的活化土壤无效钾, 其活化能力可能与长期所处的土壤条件密切相关。考虑到纯培养和形成菌根后的差异, 进一步研究外生菌根对土壤无效钾的活化很有必要。

## 参考文献

- [1] Yuan L, Fang D, Wang Z, Wei X, Huang J. Effects of potassium on the secretion of proton and oxalate by ectomycorrhizal fungi and the concentrations of nitrogen, phosphorus and potassium in their hyphae. *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21 (2) : 254-258. (in Chinese)  
袁玲, 方德华, 汪智慧, 魏兴元, 黄建国. 钾对外生菌根真菌的分泌作用及氮、磷、钾含量的影响. 生态学报, 2001, 21 (2) : 254-258.
- [2] Harley JL, Smith SE. Mycorrhizal Biomass. London: Academic Press, 1983: 210-230.
- [3] 刘志敏. 钾对外生菌根真菌分泌有机酸及氮、磷、钾营养的影响. 西南大学硕士学位论文, 2009.
- [4] Smith SE, Read DJ. Mycorrhizal Symbiosis. New York: Academic Press, 1997.
- [5] Wallander H. Uptake of P from apatite by *Pinus sylvestris* seedlings colonized by different ectomycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 2000, 218: 249-256.
- [6] Arocena JM, Glowa KR. Mineral weathering in ectomycorrhizosphere of subalpine fir as revealed by soil solution composition. *Forest Ecology Manage*, 2000, 133: 61-70.
- [7] Füzy A, Bothe H, Molnár E, Biró B. Mycorrhizal symbiosis effects on growth of chalk false-brome (*Brachypodium pinnatum*) are dependent on the environmental light regime. *Journal of Plant Physiology*, 2014, 171 (5) : 1-6.
- [8] Reis FS, Ferreira ICFR, Martins A. Effect of the mycorrhizal symbiosis time in the antioxidant activity of fungi and *Pinus pinaster* roots, stems and leaves. *Industrial Crops and Products*, 2012, 35 (1) : 211-216.
- [9] Yuan L, Fang DH, Huang JG. Bio-mobilization of potassium from soils and clay minerals: I. by ectomycorrhizas. *Pedosphere*, 2000, 10 (4) : 339-346.
- [10] Wang J, Huang Y, Jiang XY. Influence of ectomycorrhizal fungi on absorption and balance of essential elements of *Pinus tabulaeformis* seedlings in Saline soil. *Pedosphere*, 2011, 21 (3) : 400-406.
- [11] 杨剑虹, 王成林, 代亨林. 土壤农化分析与环境监测. 北京: 中国大地出版社, 2008.
- [12] 鲍士旦. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [13] Li H, Huang J, Wang M. Effects of manganese on growth, nutrient uptake and organic acid exudation by ectomycorrhizal fungi. *Journal of Beijing Forestry University*, 2012, 34 (3) : 76-80. (in Chinese)  
李华, 黄建国, 王明霞. 锰对外生菌根真菌生长、养分吸收及有机酸分泌的影响. 北京林业大学学报, 2012, 34 (3) : 76-80.
- [14] Liu Z, Huang J. Effects of potassium on the secretion of hydron by ectomycorrhizal fungi and nitrogen, phosphorus and potassium absorption. *Gansu Agricultural Science and Technology*, 2009, (1) : 25-27. (in Chinese)  
刘志敏, 黄建国. 钾对外生菌根真菌分泌氢离子及吸收氮磷钾的影响. 甘肃农业科技, 2009, (1) : 25-27.
- [15] Landeweert R, Hoffland E, Finlay RD, Kuyper TW, van Breemen N. Linking plants to rocks: ectomycorrhizal fungi mobilize nutrients from minerals. *Trends in Ecology & Evolution*, 2001, 16 (5) : 248-254.
- [16] Sousa NR, Franco AR, Ramos MA, Oliveira RS, Castro PML. Reforestation of burned stands: The effect of ectomycorrhizal fungi on *Pinus pinaster* establishment. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43 (10) : 2115-2120.
- [17] Garcia K, Delteil A, Conéjéro G, Becquer A, Plassard C, Sentenac H, Zimmermann S. Potassium nutrition of ectomycorrhizal *Pinus pinaster*: overexpression of the *Hebeloma cylindrosporum* HcTrk1 transporter affects the translocation of both K<sup>+</sup> and phosphorus in the host plant. *New Phytologist*, 2014, 201 (3) : 951-960.
- [18] Yuan L, Huang JG, Li XL, Christie P. Biological mobilization of potassium from clay minerals by ectomycorrhizal fungi and eucalypt seedling roots. *Plant and Soil*, 2004, 262: 351-361.
- [19] Li Q, Huang J. Advances of improvement of potassium nutrition in trees by ectomycorrhizal Fungi. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2011, 39 (6) : 107-110. (in Chinese)  
李倩, 黄建国. 外生菌根真菌改善树木钾素营养的研究进展. 贵州农业科学, 2011, 39 (6) : 107-110.
- [20] Welch SA, Barker WW, Banfield JF. Microbial extracellular polysaccharides and plagioclase dissolution. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1999, 63 (9) : 1405-1419.
- [21] Dutton MV, Evans CS. Oxalate production by fungi: its role in pathogenicity and ecology in the soil environment. *Canadian Journal of Microbiology*, 1996, 42 (9) : 881-895.
- [22] Wang MX, Yuan L, Zhou ZF, Yang HJ, Huang JG. Efflux of oxalate and uptake of nitrogen, phosphorus and potassium by ectomycorrhizal fungal isolates *in vitro* in response to aluminum stress. *Scientia Silvae Sinicae*, 2012, 48 (2) : 82-88.
- [23] Wallander H. Use of strontium isotope and foliar K content to estimate weathering of biotite induced by pine seedlings colonized by ectomycorrhizal fungi from two different soils. *Plant and Soil*, 2006, 222: 215-229.

# Mobilization of potassium from soil by ectomycorrhizal fungi

Liang Zhang<sup>1,2</sup>, Mingxia Wang<sup>1</sup>, Wei Zhang<sup>1</sup>, Jianguo Huang<sup>1</sup>, Ling Yuan<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> College of Resources of Environment, Southwest University, Chongqing 400716, China

<sup>2</sup> School of Biotechnology and Chemical Engineering, Taizhou College, Nanjing Normal University, Taizhou 225300, Jiangsu Province, China

**Abstract:** [Objective] Ectomycorrhizal fungi (ECMF), important components in forest ecosystems, could form symbionts with wooden plant roots and participate in nutrient absorption. [Methods] *Boletus* sp. (*Bo* 07), *Lactarius deliciosus* (*Ld* 03) and *Pisolithus tinctorius* (*Pt* 715) isolated from Southwest China and *Cenococcum geophilum* (*Cg* 04) from Daqing Mountain, Inn Mongolia, China, were cultured in liquid Pachlewsk medium at 25 °C for 28 days with soil as sole K source. Fungal biomass, K uptake, efflux of protons and organic acids, and changes of soil K pools were measured to study K mobilization from soil by ECMFs. [Results] The fungal biomass, K concentration and uptake of *Bo* 07, *Ld* 03 and *Pt* 715 were much higher than *Cg* 04, indicating their strong abilities to absorb K and to adapt low K environment by bio-evolution and selection. K concentrations in culture solution were increased by ECMFs compared to blank control (without ECMF). ECMFs could promote K release from the soil into culture solution. *Bo* 07, *Ld* 03 and *Pt* 715 increased significantly exchangeable K in soils, while structural K in soil was decreased by *Bo* 07 and *Ld* 03. They could thus mobilize unavailable K from [Conclusion] ECMF isolates could mobilize unavailable K in soils.

**Keywords:** ectomycorrhizal fungi, soil, potassium, mobilization

(本文责编:张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (40771112; 41171215)

\* Corresponding author. Tel: +86-23-68251249; E-mail: lingyuanh@aliyun.com

Received: 9 October 2013 / Revised: 24 January 2014

## 《微生物学报》编委白逢彦

### 在啤酒酵母菌的起源与驯化研究方面取得新进展

文章来源:中国科学院微生物研究所真菌室白逢彦组

发表时间:2014.05.22

啤酒根据发酵工艺和所用菌种的不同可分为两大类,即爱尔(ale)啤酒和拉格(lager)啤酒。前者使用酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)在相对较高的温度下发酵,酵母菌往往浮在上层,故又称上层发酵啤酒。后者在低温(10°C左右)条件下发酵,酵母菌往往沉于底层,故又称下层发酵啤酒。人类最开始酿造的是爱尔啤酒,已有数千年的历史。拉格啤酒一般认为最早于15世纪出现在德国巴伐利亚,但很快流行开来,逐步取代爱尔啤酒成为全球生产和消费量最大的酒精饮料。我国生产的啤酒基本上都属于拉格啤酒。

拉格啤酒发酵菌种称为巴斯德酵母(*S. pastorianus*),研究显示该种酵母菌是一个杂合种,是由爱尔啤酒发酵菌种 *S. cerevisiae* 与另一种酵母菌杂交而形成。后者赋予了拉格啤酒酵母的低温发酵能力,但其来源一直是个待解之谜。由美国、阿根廷和西班牙研究者组成的联合研究组最近在阿根廷的巴塔哥尼亚(Patagonia)高原地区发现了一种酿酒酵母属新种,命名为真贝氏酵母(*S. eubayanus*)。比较基因组学研究发现这种酵母菌与拉格啤酒酵母菌基因组中的非 *S. cerevisiae* 部分具有99.56%的序列相似性,是已发现的与拉格啤酒酵母最接近的野生酵母菌种,故上述国际团队认为 *S. eubayanus* 是拉格啤酒酵母的野生亲本,并在他们于2011年发表在PNAS上的论文中提出了拉格啤酒酵母的巴塔哥尼亚起源说。这一研究结果受到了学术界、酿造业和啤酒爱好者的广泛关注。

中国科学院微生物研究所真菌学国家重点实验室的白逢彦研究组,近年对青藏高原和相邻地区的酵母菌多样性进行了系统研究,发现这一地区酿酒酵母属(*Saccharomyces*)的物种多样性远高于世界其他地区,显示青藏高原或相邻地区可能是该(下转本期最后一页)