

丛枝菌根真菌对枳根围不同形态铁的影响

王明元¹, 夏仁学^{2*}, 王鹏²

(¹ 华侨大学化工学院生物工程与技术系, 厦门 361021)

(² 华中农业大学园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070)

摘要 【目的】本文研究了丛枝菌根(arbuscular mycorrhiza)真菌地表球囊霉(*Glomus versiforme*)对枳[*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.]实生苗土壤中有效铁及各形态铁的影响。【方法】试验采用根袋技术,以主根为中心,通过32 μm 尼龙网(菌丝可以穿过尼龙网,而根系则被限制)将土壤分为0~2 cm、2~4 cm 和4~8 cm 三类水平土层。【结果】接种丛枝菌根真菌的土壤有效铁含量表现为0~2 cm > 2~4 cm > 4~8 cm;接种丛枝菌根真菌降低了土壤中交换态铁、有机结合态铁及残渣态铁的含量;枳生长一年后,土壤中交换态铁、碳酸盐结合态铁和氧化锰结合态铁含量为0;菌根侵染率与土壤残渣态铁呈极显著正相关关系($P < 0.01$)。【结论】丛枝菌根真菌对土壤中矿质元素具有活化作用,并可以通过改变土壤中各形态铁的含量,从而促进有效铁含量的提高。

关键词: 丛枝菌根真菌; 枳实生苗; 有效铁; 形态铁

中图分类号: Q935 **文献标识码**: A **文章编号**: 0001-6209(2009)10-1347-06

土壤中的铁含量丰富,一般在1%~6%范围之内,仅次于硅和铝。然而,土壤中铁含量的多少对植物的效应较小,影响植物效应最重要的是土壤酸碱度以及土壤氧化还原能力。酸性土壤中,铁溶解性增加,可被植物吸收的铁含量上升,植物不易缺铁^[1]。

土壤中的铁形态丰富多样,主要是以交换态、碳酸盐结合态、铁锰氧化物结合态、有机质结合态、无定形铁结合态、晶形铁结合态和残渣态铁形式存在^[2]。一般认为,交换态铁对植物有效,但交换态铁含量较低,难以满足植物的需要^[3]。

丛枝菌根(arbuscular mycorrhiza, AM)真菌能够与大多数植物形成菌根共生体^[4]。一般认为,菌丝是菌根真菌吸收养分的重要器官,它的活动对菌丝周围养分的分布会产生一定影响。pH 值是影响土

壤养分有效性的关键因素,很多金属元素,如铜、铁、锌和锰等的有效性随 pH 值的降低而提高。研究表明,接种 AM 真菌其根外 10 mm 内的 pH 值变化与未接种的基本相似,而在 10 mm 以外的土壤溶液中, pH 值下降,这一变化与菌丝密度分布相吻合,这就是菌丝际 pH 效应^[5]。AM 真菌对植物中铁营养的影响已有许多报道,但 AM 真菌对土壤中各形态铁的影响尚未见报道^[6-7]。

本文主要是从土壤的角度,研究丛枝菌根真菌对土壤中各形态铁含量的影响,进一步阐明丛枝菌根真菌促进柑橘铁积累的生理机制。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和仪器: 试验中双氧水、盐酸羟胺

基金项目: 国家科技部促进三峡移民开发专项(2003EP090018, 2004EP090019); 华侨大学科研基金资助项目(08BS410)

* 通信作者。Tel: +86-27-87284181; E-mail: renxuexia@mail.hzau.edu.cn

作者简介: 王明元(1980-),男,山东枣庄人,讲师,博士,主要从事菌根共生机理研究。E-mail: mywang@hqu.edu.cn

收稿日期: 2009-05-21; 修回日期: 2009-08-04

购自国药集团化学试剂有限公司,水浴锅:天津市泰斯特仪器有限公司,DK-98-II A;移液器:Eppendorf AG 22331(Hamburg Germany);体视显微镜:泰克仪器有限公司,XTS-320型;分光光度计:日本岛津,UV-2450型;原子吸收分光光度计:美国瓦里安,220型。

1.1.2 供试材料 取黄壤与草炭,按体积3:1混合。试验基质预先经过0.11 MPa、121℃高压蒸汽灭菌2 h,其理化性状为pH 4.63,碱解氮84.53 mg/kg,有效磷26.11 mg/kg,速效钾144.79 mg/kg,有机质含量54.60 g/kg,每盆装试验基质4 kg。

供试丛枝菌根真菌为地表球囊霉 *Glomus versiforme* (Karsten) Berch,由北京市农林科学院植物营养与资源研究所“中国丛枝菌根真菌种质资源库(BGC)”提供,编号BJ03。菌剂保存于4℃冰箱中。根袋以网孔450目(32 μm)的尼龙筛网制作,直径4 cm,深14 cm。

选用的试材为我国柑橘上广泛应用的砧木枳 [*Poncirus trifoliata*(L.)Raf.]。2006年1月4日,选择籽粒饱满的枳种子,自来水冲洗干净,75%的酒精浸泡10 min,蒸馏水冲洗3-4次,然后将种子铺在湿润滤纸上,恒温培养箱26℃催芽。2周后,将已萌芽枳种子播种于根袋中,每根袋2棵,转移至温室,控制白天/夜间温度25/15℃,正常水分管理,一个月后,定苗至1棵/根袋。

1.2 试验设计

采用单因素设计,播种时,设接种 *G. versiforme* (AM)和不接种(NM)2个处理。每个根袋接种菌剂10 g,对照添加10 g灭菌土。每个根袋包括基质以及菌剂,共180 g。每处理重复3次,随机区组排列,共192盆。分别于2006年6月17号、9月17号、12月17号和2007年3月17日取样。

1.3 试验方法

土壤采集根据距离植株主根的远近,分为根袋土(<2 cm)、近距离土(2~4 cm)、远距离土(4~8 cm)。植株洗净泥沙,带回实验室,待测。

丛枝菌根的侵染率依照Phillips和Hayman^[8]的方法测定。

土壤中铁分为交换态(Exch-),氧化锰结合态(MnOX-),碳酸盐结合态(Carb-),有机质结合态(OM-),无定型氧化铁结合态(AOFe-),晶形氧化铁结合态(COFe-)和残渣态(RES-)。各形态铁按照蒋廷惠等^[2]和 Tessier 等^[9]法连续提取,用原子吸收分光光度计测定。

土壤有效铁的测定根据鲍士旦^[10]方法。

1.4 统计分析

所有试验数据运用SAS软件(8.1版本)ANOVA过程进行处理间差异显著性测验,采用LSD法作多重比较分析,用CORR过程分析变量间的相关关系。

2 结果和分析

2.1 丛枝菌根真菌对枳根围土壤有效铁年动态变化的影响

从图1可以看出,接种与未接种 *G. versiforme* 的枳根围2~8 cm内土壤有效铁含量年动态变化相似,在2006年12月份之前,表现为先下降,后上升的趋势,最小值出现在6月份,最大值出现在12月份。未接种处理的根围0~2 cm土壤有效铁含量年动态变化呈单峰曲线,先上升,后下降,峰值位于9月份,显著高于同一根围接种处理的,也高于2~4 cm和4~8 cm土壤中的。枳根围2~4 cm土壤有效铁含量在9月份之前高于未接种处理的,4~8 cm土壤中接种处理中有效铁含量在6月份高于未接种的,之后一直低于未接种处理的。可以看出,接种处理的根围0~4 cm土壤有效铁含量在12月份之后明显下降,4~8 cm土壤中的上升缓慢。而对应的未接种的2~8 cm土壤中有有效铁含量在6月份之后急剧上升,在2007年3月份出现最高值。在9月份之后,接种处理的土壤有效铁含量表现为:0~2 cm > 2~4 cm > 4~8 cm;未接种处理的则为:4~8 cm > 2~4 cm,且同一月份差异不显著。

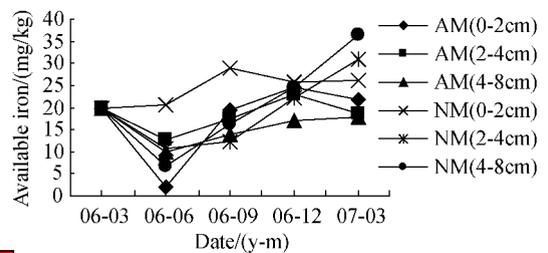


图1 接种 *G. versiforme* 对枳不同根围土壤中有有效铁含量年动态变化的影响

Fig.1 Effects of *G. versiforme* on seasonal variation of available iron in different trifoliolate orange rhizospheric soil.

2.2 丛枝菌根真菌对柑橘根围土壤各形态铁年动态变化的影响

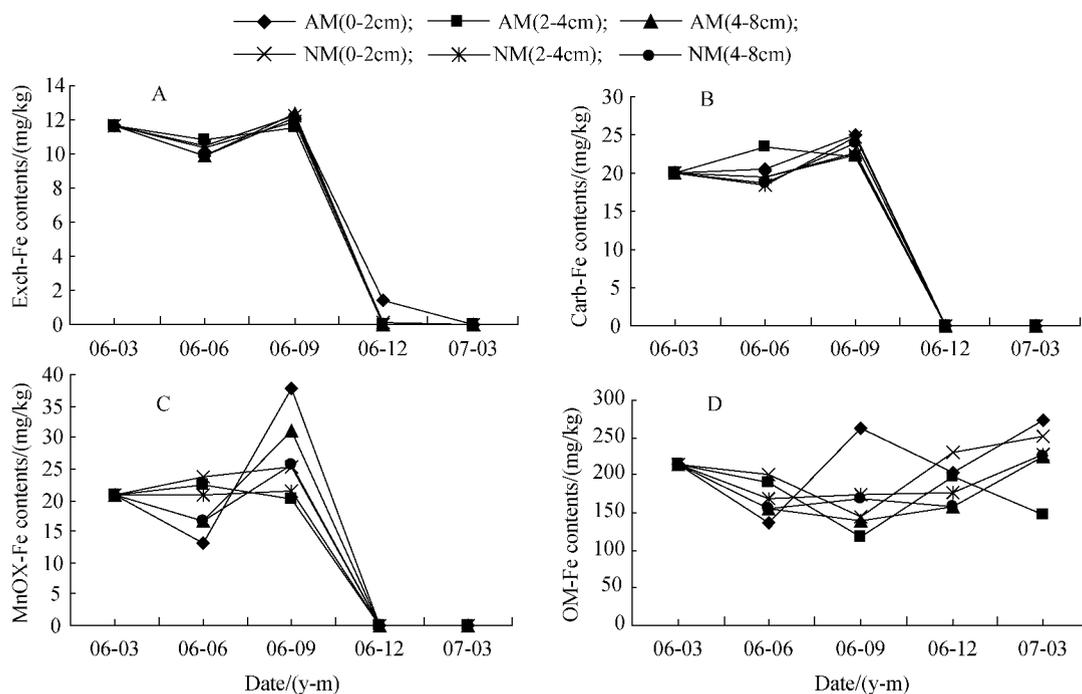
图2-A结果显示,接种与未接种 *G. versiforme* 处理的不同根围土壤中交换态铁含量年动态变化趋势一致,表现为单峰曲线,呈下降、上升再下降的趋势,最低值在6月份出现,峰值在9月份,12月份含量急剧下降,至2007年3月份未发现土壤交换态铁

的存在。

0~2 cm 土壤中,接种处理的在 6 月份之后高于未接种处理的,至 2007 年 3 月份,降至 0; 2~4 cm 土壤中,接种处理的 6 月份之后低于未接种的,至 12 月份降为 0,至 2007 年 3 月份; 4~8 cm 土壤中,接种处理的交换态铁含量始终高于未接种处理的,至 12 月份同时降至 0,至 2007 年 3 月份。这说明,无论接种与未接种处理,枳在生长一年之后其土壤中交换态铁完全被转化或为植物等消耗。接种与未接种处理的同一月份同一土层交换态铁含量没有显著差异。

图 2-B 结果表明,接种与未接种 *G. versiforme* 处理的不同根围土壤中碳酸盐结合态铁含量年动态变化趋势一致,表现为单峰曲线,且在 2006 年 12 月

份和 2007 年 3 月份未能检测到土壤中碳酸盐结合态铁的含量;不同的是,接种处理 2~4 cm 的土壤碳酸盐结合态铁在 6 月份出现峰值,然后下降,其它处理的在 6 月份处于波谷,9 月份出现最大值; 0~2 cm 土壤中,接种处理的在 6 月份和 9 月份其值高于未接种处理的,2~4 cm 以及 4~8 cm 土壤中,接种处理的在 6 月份其碳酸盐结合态铁含量高于未接种的,而在 9 月份则低于未接种的。无论接种还是未接种处理的不同根围土壤碳酸盐结合态铁含量在 2006 年 12 月份之后降至 0,这说明,枳在生长 9 个月之后其土壤中碳酸盐结合态铁完全被植物或微生物消耗。接种与未接种处理的同一月份同一土层交换态铁含量没有显著差异。



2 接种 *G. versiforme* 对枳不同根围土壤中交换态铁(A)、碳酸盐结合态铁(B)、氧化锰结合态铁(C)、有机结合态铁(D)含量年动态变化的影响

Fig.2 Effects of *G. versiforme* on seasonal variation of Exch-Fe (A), Carb-Fe (B), MnOX-Fe (C) and OM-Fe (D) in different trifoliate orange rhizospheric soil.

AM 真菌对枳不同根围土壤氧化锰结合态铁年动态变化的影响见图 2-C。从图中可以看出,接种与未接种处理的不同根围土壤中氧化锰结合态铁变化趋势相似,呈单峰曲线,且在 2006 年 12 月份以及 2007 年 3 月份未发现土壤中氧化锰结合态铁的存在; 4~8 cm 土壤中其值在 6 月份处于波谷,9 月份出现峰值;其区别在于,接种处理 2~4 cm 土壤以及未接种处理 0~2 cm 土壤中氧化锰结合态铁在 6 月份呈上升趋势; 0~2 cm 土壤中,接种处理的在 6 月份之后高于未接种处理的,至 12 月份,同时降至 0;

2~4 cm 土壤中,接种处理的 6 月份之后低于未接种处理的,至 12 月份降低为 0; 4~8 cm 土壤中,接种处理的交换态铁含量始终高于未接种处理的。

AM 真菌对枳不同根围土壤有机结合态铁年动态变化的影响见图 2-D。由图中可以看出,不同根围接种与未接种处理的土壤有机结合态铁含量变化呈两种曲线,其一,接种处理 2~4 cm、4~8 cm 以及未接种处理的 0~2 cm 土壤的,曲线呈“V”字型,在 9 月份处于波谷,不同的是接种 2~4 cm 的土壤有机结合态铁含量在 12 月份后出现下降,其它 2 个处理

的则持续上升;其二,剩余处理的曲线呈“W”型,其值在6月份和12月份位于波谷,9月份和2007年3月份处于峰值。

同一根围土壤中接种与未接种处理的含量变化存在差异,0~2 cm土壤和2~4 cm土壤中,接种处理的与未接种处理的有机结合态铁含量呈交替变化,0~2 cm土壤中,在6月份和12月份接种处理的值低于未接种处理的,9月份和2007年3月份则高于未接种处理的,2~4 cm土壤中的变化则相反;4~8 cm土壤中,接种处理的有机结合态铁含量自6月份之后始终低于未接种处理的。

图3-A结果显示,不同根围接种与未接种的土壤无定形氧化铁结合态铁含量变化基本相似,呈持续上升趋势,并在9~12月份有明显的急剧上升现象。同一根围土壤中接种与未接种处理的含量变化有所不同,0~2 cm土壤中6月份之后接种处理的值高于未接种处理的,4~8 cm土壤中,接种处理的与未接种处理的有机结合态铁含量呈交替变化,在6月份和12月份接种的低于未接种的,而在9月份和2007年12月份,其值高于未接种的,4~8 cm土壤中的变化也不同,与未接种处理的相比,接种处理的土壤无定形氧化铁结合态铁含量在2007年3月份之前始终较低。接种与未接种处理的同一月份同一土层交换态铁含量没有显著差异。

图3-B结果表明,不同根围接种与未接种处理的土壤无定形氧化铁结合态铁含量变化一致,呈单峰曲线,2006年3月份至12月份持续上升,12月份为峰值,然后下降,并在12月份有明显的急剧升高现象。同一根围土壤中接种与未接种处理的含量变化有所不同,0~2 cm土壤中接种的其值总是高于未接种处理的,2~4 cm土壤中,除12月份接种处理的其值低于未接种处理的,其余都高于未接种处理的,4~8 cm土壤中的变化则显示,接种处理的土壤晶型氧化铁结合态铁含量在2006年3月份之后始终低于未接种处理的。接种与未接种处理的同一月份同一土层交换态铁含量没有显著差异。

从图3-C中可以得出,不同根围接种与未接种的土壤残渣态铁含量变化呈两种趋势:接种处理的2~4 cm土壤中残渣态铁含量呈持续上升现象,而其它处理的其值在6月份有下降趋势,并在6月份或9月份出现最低值,继而在12月份有明显的上升过程。

同一根围土壤中接种与未接种处理的含量变化有所不同,0~2 cm土壤中接种的其值总是低于未

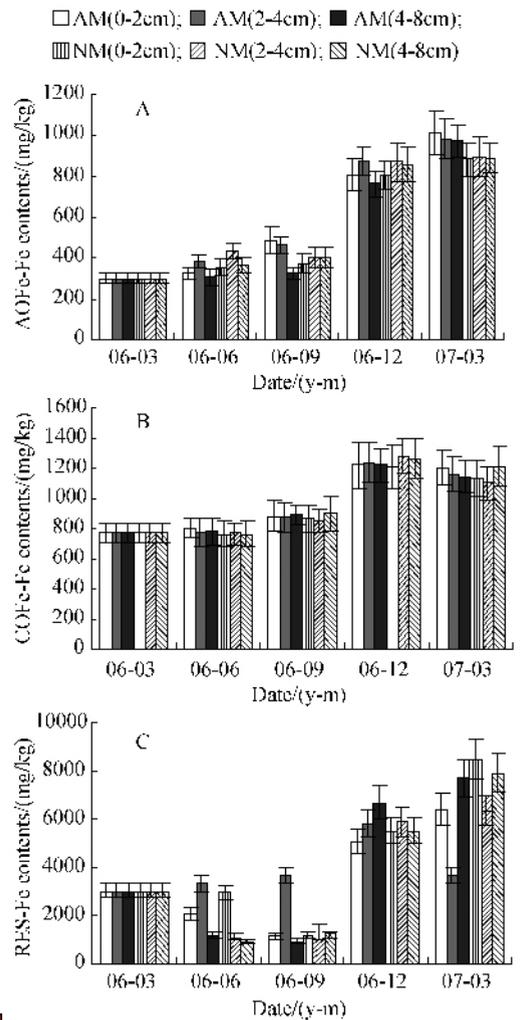


图3 接种 *G. versiforme* 对枳不同根围土壤中无定形氧化铁结合态铁(A)、晶型氧化铁结合态铁含量年动态变化的影响(B)、残渣态铁(C)含量年动态变化的影响

Fig.3 Effects of *G. versiforme* on seasonal variation of AOFe-Fe (A), COFe-Fe (B) and RES-Fe (C) in different trifoliate orange rhizospheric soil.

接种处理的2~4 cm土壤中,9月份前接种处理的其值高于未接种处理的,9月份之后则低于未接种的,4~8 cm土壤中的变化则显示,接种处理的与未接种处理的呈交替变化,在6月份和12月份,接种处理的土壤残渣态铁含量高于未接种处理的,而在9月份和2007年3月份则相反。接种或未接种处理的不同根围土壤中残渣态铁的含量比较没有明显的顺序。

2.3 菌根侵染率与土壤中有效铁和各形态铁的相关关系

从表1可以得出,菌根侵染率与土壤无定形氧化铁结合态铁、晶型氧化铁结合态铁、残渣态铁呈显著或极显著正相关,而交换态铁、碳酸盐结合态铁呈

表1 枳菌根侵染率与土壤中有效铁和各形态铁的相关关系

Table 1 Relational coefficient of citrus AM colonization, available Fe and iron species in soil

Available Fe	Exch-Fe	Carb-Fe	MnOX-Fe	OM-Fe	AOfFe-Fe	COFe-Fe	RES-Fe
0.4076	-0.6861 [*]	-0.6849 [*]	-0.5716	-0.0864	0.8156 ^{**}	0.6532 [*]	0.8245 ^{**}

显著负相关。这些说明柑橘接种 *G. versiforme* 对土壤中各形态铁含量产生了正或负效应,因此,AM 真菌在土壤铁的转化中起到重要作用。

3 结果和讨论

根据 1984 年 Barber 定义的土壤有效养分,土壤有效养分是指根系能够接触到,并被植物以能够影响其生长速率吸收的养分。这个定义要求植物有效养分不但在化学形态上,而且在空间上都应该对植物有效,并且在数量上能够满足植物的营养需要。

土壤中铁的形态复杂,包括水溶态、交换态、碳酸盐结合态、有机结合态、氧化锰结合态、晶型氧化铁结合态、无定形氧化铁结合态、残渣态等,本试验中由于水溶态含量极低几乎检测不到,因此未进行测定。土壤中有效铁的含量决定植物缺铁与否,目前土壤中有效铁的形态没有确定,主要是影响土壤铁有效性的因子非常广泛,错综复杂^[11-13]。

植物对土壤中不同形态铁的影响较大。本试验中,盆栽枳不同根围土壤中有效铁含量基本呈先下降后上升的趋势。主要是植物根系对有效铁的吸收,打破土壤中有效铁及各形态铁的平衡,促使土壤中各形态铁向有效铁转化。同时,植物根系分泌物,包括有机酸、酚类物质和碳水化合物等,这些物质改变根系周围土壤溶液 pH 值,进而影响土壤中有效铁以及各形态铁的分布和含量。本试验结果表明,柑橘根围土壤中交换态铁、碳酸盐结合态铁以及氧化锰结合态铁的含量在 2006 年 12 月份及其以后都为 0,这说明盆栽柑橘 9 个月后,这些形态的铁已经被枳的生长而完全消耗,这与刘文科等^[14]的结果一致,试验发现油菜种植 3 个月后其土壤中交换态铁被耗尽。本试验中,接种与未接种 *G. versiforme* 的不同根围土壤中无定形氧化铁结合态铁和晶型氧化铁结合态铁的含量上升,这说明这两种形态的铁明显受到植物根系的作用,含量提高。

本人^[15]研究表明,土壤各形态铁中,残渣态铁和交换态铁是土壤中有效性铁的组成部分,与高明等^[16]的研究结果一致。本试验中菌根侵染率与残渣态铁呈极显著正相关关系,说明接种 AM 真菌能够提高土壤中残渣态的含量,增加土壤中有效铁成分。接种 *G. versiforme* 的土壤中有效铁含量低于未

接种处理的,进一步验证了 AM 真菌对土壤中有效态铁的影响。接种 *G. versiforme* 后,在菌根分泌物的作用下,改变了菌根际土壤溶液 pH 值和有机物的成分,促使土壤中有效铁向有效态转化,柑橘根系由于吸收到大量的有效铁,继而表现出根围有效铁含量降低的现象^[7]。

AM 真菌对寄主植物铁吸收的影响已有报道,但对于 AM 真菌的作用机理研究较少^[7,17]。本试验里,在土壤各形态铁年动态变化中 AM 真菌的发育特点、形态结构的变化特征以及菌根际分泌物的动态过程还需要进一步的试验分析,进而从更深层次探索 AM 真菌与土壤中各形态铁年动态变化的关系。

参考文献

- [1] 曹慧,韩振海,许雪峰,等. 高等植物的铁营养. 植物生理学通讯(*Plant Physiology Communications*), 2002, 38(2): 180-186.
- [2] 蒋廷惠,胡霏堂,秦怀英. 土壤锌、铜、铁、锰形态区分方法的选择. 环境科学学报(*Acta Scientiae Circumstantiae*), 1990, 10(3): 280-286.
- [3] 王敬国. 植物营养的土壤化学. 第一版. 北京:北京农业大学出版社,1995.
- [4] 刘润进,陈应龙. 菌根学. 第一版. 北京:科学出版社,2007.
- [5] 张福锁. 环境胁迫与植物根际营养. 第一版. 北京:中国农业出版社,1998.
- [6] Caris C, Hördt W, Hawkins HJ, et al. Studies of iron transport by arbuscular mycorrhizal hyphae from soil to peanut and sorghum plants. *Mycorrhiza*, 1998, 8: 35-39.
- [7] 王明元,夏仁学,王幼珊,等. 缺铁和过量重碳酸盐胁迫下丛枝菌根真菌对枳生长的影响. 园艺学报(*Acta Horticulturae Sinica*), 2008, 35(4): 469-474.
- [8] Phillips JM, Hayman DS. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of British Mycological Society*, 1970, 55: 158-161.
- [9] Tessier A, Campbell PGC, Bisson M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, 1979, 51(7): 844-851.
- [10] 鲍士旦. 土壤农化分析. 第三版. 北京:中国农业出版社,2008.

- [11] 魏孝荣. 旱地长期定位试验对土壤锌、铜、锰、铁化学特性影响的研究. 西北农林科技大学学位论文, 2004.
- [12] 魏孝荣, 郝明德, 邵明安. 黄土高原旱地长期种植作物对土壤微量元素形态和有效性的影响. 生态学报 (*Acta Ecologica Sinica*), 2005, 25(12): 3196 - 3203.
- [13] 王改改, 傅瓦利, 魏朝富, 等. 消落带土壤铁的形态变化及其对有效磷的影响. 土壤通报 (*Chinese Journal of Soil Science*), 2008, 39(1): 66 - 70.
- [14] 刘文科, 杜连凤, 刘东臣. 有机肥与植物种类对铁肥形态转化及其有效性的影响. 土壤与环境 (*Soil and Environmental Sciences*), 2002, 11(3): 286 - 289.
- [15] 王明元. 丛枝菌根真菌对柑橘铁吸收的效应及其作用机理. 华中农业大学学位论文, 2008.
- [16] 高明, 车福才, 魏朝富, 等. 长期施用有机肥对紫色水稻土铁锰铜锌形态的影响. 植物营养与肥料学报 (*Plant Nutrition and Fertilizer Science*), 2000, (6): 11 - 17.
- [17] Pacovsky RS, Fuller G. Mineral and lipid composition of *Glycine- Glomus- Bradyrhizobium* symbioses. *Physiologia Plantarum*, 1988, 72 : 733 - 746.

Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on different iron species in *Poncirus trifoliata* rhizospheric soil

Mingyuan Wang^{1, 2}, Renxue Xia^{2*}, Peng Wang²

(¹Department of Bioengineering and Biotechnology, College of Chemical Engineering, Huaqiao University, Xiamen 361021, China)

(²Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract [Objective] We studied the effects of arbuscular mycorrhizal (AM) fungus (*Glomus versiforme*) on iron species at different trifoliolate orange [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] rhizospheric soil with pot culture. **[Methods]** The soil range in horizon was separated into 0 - 2 cm , 2 - 4 cm and 4 - 8 cm away from the citrus taproot by nylon bags with 32 μ m sieve , whereby citrus roots could not across but AM hyphae could. Mycorrhizal colonization was confirmed by trypan blue staining method. Iron species contents were quantified by atomic spectrometry , and phosphorus contents was through phospho-vanado- molybdate colorimetry. **[Results]** Available iron contents in AM treatment were followed the order by 0 - 2 cm > 2 - 4 cm > 4 - 8 cm. AM fungus decreased the contents of Exch-Fe , OM-Fe , RES-Fe. The concentration of Exch-Fe , Carb-Fe and MnOX-Fe became zero one year later. AM colonization was significantly positive relation with RES-Fe ($P < 0.01$) **[Conclusion]** Arbuscular mycorrhizal fungi could affect the activation on mineral elements , and improve the available iron contents through the changes on iron species in soil.

Keywords : Arbuscular mycorrhizal fungi ; *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. seedlings ; available iron ; iron species

(本文责编 : 张晓丽)