第3卷 第2期
1997年6月

植物营养与肥料学报
PLANT NUTRITION AND FERTILIZER SCIENCE

Vol.3 No.2
Jun. 1997

三叶草根间菌丝桥在^{32}P传递中的作用①

张俊伶　李晓林　杨志福

（中国农业大学植物营养系，北京　100094）

摘　要

应用五室方法研究了不同收获期三叶草根间菌丝桥在^{32}P传递中的作用及其对受体植株生长的影响。结果证实^{32}P可以通过菌丝桥在三叶草根系间传递，三个收获期^{32}P的传递量无显著差异；供体和受体植株根间形成的菌丝桥对受体植株生长的促进作用在10周时才表现出来。本文对影响植株间菌丝桥传递转移^{32}P数量的因素进行了初步的讨论。

关键词　菌丝桥　三叶草　VA菌根　^{32}P　养分传递

菌根是真菌与高等植物根系形成的共生体，在缺磷的土壤上其对宿主植物的生长起着重要的作用[1,2]。由于菌根真菌无严格的宿主专一性[3,4]，因而一种菌根真菌可以侵染多种植物的根系。菌根真菌侵染一株植物后，一方面向植株根内发展形成丛枝结构，另一方面向根外介质中广泛延伸，形成庞大的根外菌丝网络。因而一株植物（供体植物）根外菌丝生长的过程中，可以继续再度侵染其它的植物（受体植物），从而在供体和受体植株间形成由菌丝构成的株间桥梁。众多的植物根间菌丝桥可以在土壤中形成一个密集的地下菌丝桥网络系统，构成植物在地下能够进行信息和物质交流的渠道。近年来，一些试验研究表明，磷可以通过植株根间形成的菌丝桥在同种或不同种植物之间进行传递[5~8]。但由于试验均采用将供给养分的植物（供体植物）和接受养分的植物（受体植物）混种或采用分根的方法，无法排除磷素通过其它传递途径在植株间移动的可能性，因而菌丝桥在植株间磷传递中的作用至今仍无定论。张俊伶等验证了应用五室隔板法在完全排除磷通过其它途径在植株间传递的情况下，用以研究菌丝桥在三叶草根间磷素传递中作用的可行性[9]。试验结果表明，^{32}P 确实可以通过菌丝桥在三叶草植株间传递，但^{32}P的传递量很少，一般只有十几个脉冲。为进一步验证菌丝桥在磷传递中的作用，本试验采用改进的五室方法对其进行深入的研究。

一、材料与方法

（一）试验装置

为有机玻璃制成的五室隔板系统。试验装置见图1。自左至右为A、B、C、D和E五室。A和E室长、宽、高为3cm×8cm×3cm，B、C和D室为2cm×8cm×8cm；A、B室，C、D室及D、E室之间用孔径30μ m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从边室中吸收养分。B室和C室之间用厚度为2mm的玻璃板隔开，玻璃板上开有尽可能多的直径为4mm的孔。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

① 国家自然科学基金资助项目
收稿日期：1996－07－19

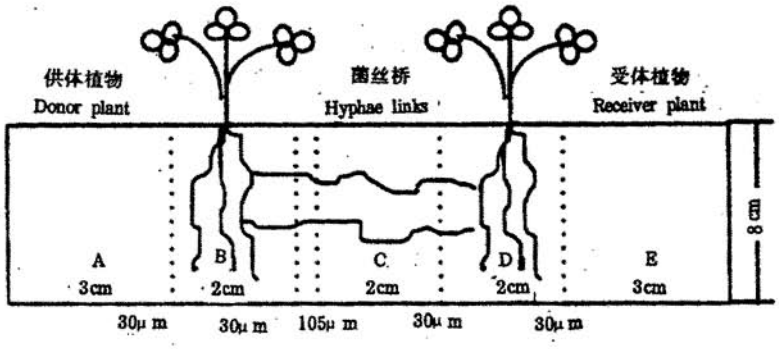

图1 五室隔板装置示意图

Fig.1 Diagram ot the pot used

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室有缓冲水分的作用，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。

(二)供试材料

1. 供试土壤 为北京大兴县庞各庄乡的耕层砂壤土，有机质含量为0.39%，全N0.027%，Olsen-P为3.9 mg/kg，速效钾(NH_4AC-K)为60.4mg/kg，缓效钾(1mol/L HNO_3浸提K)为611.4mg/kg，pH(盐浸)7.8，田间持水量(FWC)21.0%。土壤过1mm土筛后在120℃高压蒸汽灭菌2小时，以消除土壤中的真菌孢子。

2. 供试作物 供体植物和受体植物均为红三叶草(*Trifolium prafense* L.)

3. 菌根菌种 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。

(三)试验设计与管理

1. 试验方案 试验分同位素及相应的非同位素试验两组。各组包括接种(+M)和不接种(−M)VA菌根真菌两种处理，各处理均设9次重复。

2. 施肥水平 同位素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1。同位素^{32}P标记在B室，标记量均为0.4mCi/kg P_2O_5。所有的肥料及^{32}P均做基肥和土壤拌匀后装盆。

3. 接种菌根 接种菌根真菌仅在B室中进行。50g接种剂和100g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。B、D室装入相同重量的砂土。其余两室土壤重量均为250g。装盆后各室土壤容重为1.3g/cm^3。

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

5. 温度和光照 试验在温室中进行，生长期间维持温度在20～25℃，靠自然光照射，光照时间为每天14小时，早晨7～8点和下午5～8点用生物镝灯补充光照。

表 1 试验施肥水平

Table 1 Fertilizer applied in each compartment

养分 Nutrient	施肥量 Fertilizer rate (mg/kg)					肥料品种 Fertilizer
	A	B	C	D	E	
N	100		100	100	100	NH_4NO_3
K	150		150	150	150	K_2SO_4
P	50		0	0	0	KH_2PO_4

(四)收获和测定

三叶草生长至6周、8周和10周时分次收获，每次收3个重复。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室三叶草地上部^{32}P的强度。非同位素试验则分别收获B、D室三叶草根部，将根系洗净后从中称取0.5g，用酸性品红-网络交叉染色法测定菌根侵染率。

二、结果与分析

(一)供体三叶草菌根侵染率、生长及体内磷素状况

表2的结果表明，B室未接种菌根真菌处理植株根系未发现菌根真菌的侵染。除第8周收获时三叶草植株根系菌根侵染率有所卜降外，植株生长6周和10周时接种植株根系的侵染率均较高且无显著性差异。显微镜观察发现接种处理边室有大量的菌丝体存在，并且一直延续到盆体3cm处(边室的宽度)，同时中室土壤中也发现大量的菌丝体(图1)。

表 2　不同收获期供体三叶草根系的侵染率及植株地上部干物重

Table 2　Dynamic of VAM infection rate and shoot dry weight of donor clover at different harvest times

收获时间(周) Harvest time(weeks)	菌根侵染率(%) VAM infection rate		地上部干物重(克/盆) Shoot DW(g/pot)	
	-M	+M	-M	+M
6	0c	24.04a	2.05c	2.12c
8	0c	14.37b	2.60b	3.39a
10	0c	20.95a	2.50b	3.62a

注：应用L.S.R法检验处理间差异程度，同一测试项目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 difference, means for the same testing item followed the same letters are not significantly different at $p \leqslant 0.05$.

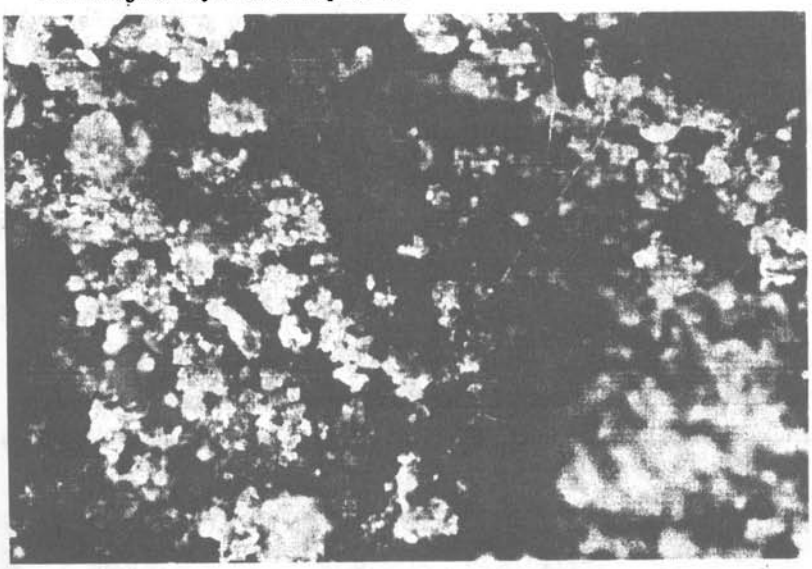

图1　中室土壤中的菌丝体

Fig.1　Hyphae in soil in central compartment

不同收获期供体三叶草地上部的干物重测定看出，6周时接种菌根真菌不影响宿主三叶草地上部的干物重；8周和10周时植株地上部的干物重均因接种菌根真菌而增加，二者分别为对照植株的1.3倍左右。尽管二者之间未达显著差异，但均高于6周时植株的生物量。而相应的未接种处理植株地上部的干物重随时间的延长虽有所增加，但变化很小，只有0.5g左右(表2)。

三个收获期供体三叶草地上部^{32}P的总强度见图2。从图中可以看出，接种菌根真菌提高了供体三叶草体内^{32}P的总强度。植株生长到8周时地上部^{32}P的强度较6周时有所下降，但未达显著水平；10周时^{32}P的强度又有回升，且强度高于6周和8周时的测定值，而相应的对照植株体内^{32}P的总强度整个生长期内基本不变。接种菌根真菌植株单位干物重^{32}P的强度在6周时最大，为6028 cpm，8周时下降了近一半，10周时有所回升，但增加量不大，这与三叶草地上部^{32}P的总强度不同。整个生长期未接种植株单位干物重^{32}P的强度变化不大(图3)。

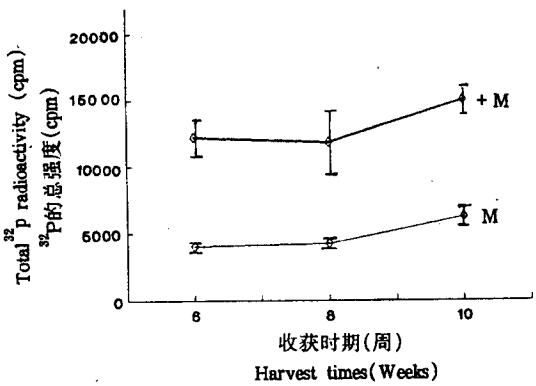

图2 不同收获期供体三叶草地上部^{32}P的总强度

Fig.2 Dynamic of total ^{32}P radioactivity in shoot of donor red clover at different harvest times

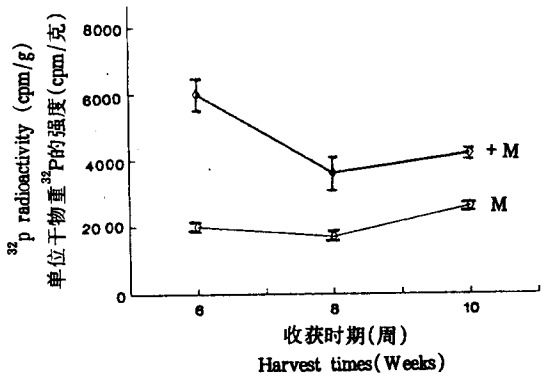

图3 不同收获期供体三叶草单位干物重^{32}P的强度

Fig.3 Dynamic of ^{32}P radioactivity of unit dry wt. in shoot of donor red clover at different harvest times

(二)受体三叶草菌根侵染率、生长及体内磷素状况

供体三叶草接种菌根真菌后，菌丝在生长的过程中接触到受体三叶草的根系后可以再度侵染。从表3中可以看出，三个收获时期接种受体根系的侵染率均较高，但没有显著性差异，说明6周时侵染已达相当水平。与此相反，相应的对照植株根系没有菌根侵染，表明供体接种菌根真菌后在供体和受体植株根间形成了菌丝桥。

10周时供体三叶草接种菌根处理受体三叶草地上部的生物量高于相应的对照处理(表3)，高达2.5倍左右，而6周和8周时处理间无显著性差异。供体未接种处理受体植株地上部的干物重8周时较6周和10周时高，尽管达显著水平，但差值不很大。6周和10周时植株干物重无显著性差异。

表 3 不同收获期受体三叶草根系的菌根侵染率及植株地上部干物重

Table 3 Dynamic of VAM infection rate and dry weight of receiver red clover at different harvest times

收获时间(周) Harvest time(weeks)	菌根侵染率(%) VAM infection rate		地上部干物重(克/盆) Shoot DW(g/pot)	
	-M	+M	-M	+M
6	0b	24.0a	0.77c	0.97c
8	0b	19.6a	1.19b	1.61b
10	0b	24.8a	0.69c	2.17a

表 4　不同收获期受体三叶草体内^{32}P的强度及^{32}P的传递量

Table 4　Dynamic of ^{32}P radioactivity in shoot of receiver red clover and the amout of ^{32}P transfered via VAM hyphae links at different harvest times

收获时间(周) Harvest time (weeks)	^{32}P总的强度(cpm) Total ^{32}P radioactivity		单位干物重的^{32}P强度(cpm/g) ^{32}P radioactivity per gram		^{32}P的转移量(%) ^{32}P transfered via hyphae links	
	-M	+M	-M	+M	-M	+M
6	0b	1540a	0c	1400.2a	0	12.1
8	0b	906a	0c	571.3b	0	7.8
10	0b	1520a	0c	675.3b	0	9.7

表4结果表明，供体根室未接种菌根真菌处理受体体内未测出放射性的^{32}P，而供体和受体植株根系间形成菌丝桥后，菌丝桥可以将供体植株吸收的^{32}P传递给受体植株，从而在受体植株体内发现有^{32}P的强度存在，但三个收获期检测的^{32}P总强度却无显著性的差异。由于生物稀释效应，有菌丝桥形成处理受体体内单位干物重^{32}P的强度在6周时最大，8周和10周时有所下降，但二者未达显著性水平。

供体未接种菌根真菌处理受体三叶草体内未检测到^{32}P的强度(表4)，表明^{32}P没有在植株间进行传递；而接种菌根处理，当供体和受体植株根间菌丝桥形成以后，^{32}P可以通过菌丝桥在供体和受体植株间传递。三个收获期菌丝桥传递^{32}P的量有所变化，变幅在8%～12%之间。8周时最低(7.8%)，10周次之(9.7%)，6周时菌丝桥传递^{32}P的量达12.1%。

三、讨　论

(一)菌丝桥的形成

试验证明，供体接种菌根真菌可在供体和受体间形成菌丝桥。这可以通过植株根系侵染率及^{32}P强度的事实得到证实。本试验供体三叶草接种菌根真菌后在受体植株根系中也发现有菌根的侵染(表3)，而相应未接种的对照处理受体植株根系无菌根侵染。说明供体三叶草植株根外菌丝可穿过空气层和尼龙网，在中室中生长并再度侵染受体植株的根系，形成植株间的菌丝桥。同时，供体接种的处理其受体植株体内有放射性的^{32}P，而相应的对照处理则未检测到^{32}P的强度(表4)，说明^{32}P确实可以通过三叶草根间形成的菌丝桥在植株间进行传递。本试验进一步验证了应用五室隔板法研究菌丝桥在植株间磷素传递作用中的可行性[9]。

(二)影响菌丝桥传递磷的因素

菌丝桥在植株间传递磷素的数量受植株根系间菌丝桥的数量及供体和受体植株体内磷营养状况的影响。本试验一些影响菌丝桥形成的因子如土壤pH值，侵染体数量[10]，光照条件[11]，土壤湿度[12]，土壤温度[13]等均与菌丝桥转移^{32}P的数量有关。表2中8周时供体三叶草根系菌根侵染率低于6周和10周时的侵染率，使这一时期受体植株根系侵染率降低，进而也降低了^{32}P的转移量。之所以有这样的变化可能是这一时期植株根系生长速率快于菌根真菌侵染速率而引起的。另外，此时一些菌丝活性的下降也可引起8周时植株菌根侵染率的下降。与张俊伶[9]试验结果相比，本试验三叶草根系间^{32}P的转移量明显加大(表4)，可能是由于试验进行过程中各种条

件均有利于菌根真菌对宿主植物根系的侵染及菌丝体生长，从而植株间形成的菌丝桥的数量较多，提高了^{32}P通过菌丝桥在植株根系间的传递量。进一步的试验需测定植株间形成的菌丝桥的数量。尽管本试验中没有探讨影响菌丝桥传递磷的另一个因子，但多数试验结果均表明植株间养分库源强度越大，越有利于磷在植株间的传递。

（三）菌丝桥与植物生长

本试验中源于供体三叶草根系的菌丝到达受体植株的根系需要一定的时间，因而受体植株的生长状况与菌根真菌的侵染过程密切相关。在菌根真菌侵染宿主植物根系的初期，菌根真菌需要由从宿主植物提供一定数量的光合产物，用以维持菌丝的生长，而后才能促进宿主植物对土壤中一些难移动的养分如P、Zn、Cu[14~16]等的吸收，从而改善植物的生长状况。此时的菌根真菌作为一个与植物根系竞争光合产物很强的库，通常限制[17]或抑制[18]宿主植物的生长。本试验供体接种菌根真菌处理受体三叶草生长效应之所以在10周时才表现出来可能就与此有关。随收获期的延长，菌丝桥的作用必将进一步发挥。8周时不接种菌根受体三叶草地上部干物重高于10周时的干物重，主要是由于未接种菌根真菌时，植物的生长受到营养限制，从而引起植株的过早衰亡，此时观察到植株叶缘及老叶的明显干枯。

（四）菌丝桥与^{32}P的传递

Ritz和Newman[19]研究^{32}P在黑麦草（*Lolium perenne*）和车前草（*Plantago lanceolata*）根间传递的动态时发现，随时间延长，^{32}P在植株根间的转移量逐渐增大。本试验没有发现这一趋势（表4），相反，三叶草生长到8周时受体植株地上部^{32}P总强度较6周和10周时低，三叶草供体和受体根系间^{32}P的传递量也显示同样的趋势。可能与这一时期植株根系的菌根侵染率太低，植株间形成的菌丝桥的数量较少有关。此外，此时植株根系与菌根真菌较强的竞争作用也可能是限制菌丝桥传递作用的一个因素。6周和10周时受体三叶草地上部的^{32}P总强度没有差异，可能是这两个时期三叶草根间形成的菌丝桥的数量已达到最大，从而^{32}P在植株根间的转移量也达到一个动态的平衡过程；植株收获次数过少及生育期较短也可能是其中的影响因素。为了证实试验结论的可靠性，进一步试验需增加植物生长期收获次数或对植株进行活体动态检测。

虽然本试验结果表明菌丝桥在三叶草植株间传递的^{32}P只占收获时供体植株体内^{32}P放射性强度的9%～12%，这可能与侵染供体植物根系的菌根菌丝必须穿过空气层隔板和网膜进入中室，再从中室穿过网膜才能到达受体植物的根系路径障碍有关。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都会影响到受体植株根系菌根真菌的侵染率及植株根系间菌丝桥形成的数量。然而，自然生态条件下，菌丝体的生长不会受到象空气隔层这样的限制，如Ritz和Newman[20]研究发现每毫米车前草根上就有数处菌丝桥的连接。一些根分枝少，根密度小的植物其菌丝桥的密度较大，且桥接距离可达数厘米之远[19,21]。因此，自然条件下，植物根系间大量的纵横交错的菌丝桥必然在植株根间磷传递中起着重要的作用。

参 考 文 献

1 Cooper K M and Tinker P B, 1978: Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhiza Ⅱ. Uptake and translocation of phosphorus, zinc and sulphur. New Phytol., 81:43～52.

2 Tinker P B Jones M D and Durall D M, 1992: A functional comparison of ecto- and endomycorrhizas. In: Mycorrhizas in Ecosystems (Eds. D. J. Read, D. H. Lewis, A. H. Fitter and I. J. Alexander). pp303～310. CAB International, Willingford, UK.

3 Harley J L, 1989: The significiance of mycorrhizae. Mycol. Res., 92:129～137.

4 Mosse B, 1973: Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. Annual Review of Phytopathology, 11:171～183.

5 Alison J J and Newman E I, 1980: The influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on phosphorus transfer between plants. New Phytol., 85:173～179.

6 Chiariello N, Hickman J C and Mooney H A, 1982: Endomycorrhizal role for interspecific transfer of phosphorus in a community of annual plants. Science, 217:941～943.

7 Francis F, Finlay R D and Read D J, 1986: Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems IV. Transfer of nutrients in inter- and intra-specific combinations of host plants. New Phytol., 102:103～111.

8 Whittingham J and Read D J, 1982: Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. Nutrient transfer between plants with mycorrhizal interconnections. New Phytol., 90:277～284.

9 张俊伶，李晓林，杨志福等，1996：五室隔板法研究三叶草根间菌丝桥磷传递的可行性。中国农业大学学报(正在出版)。

10 Powell C L, 1980: Mycorrhizal infectivity in eroded soils. Soil Biochem., 12:247～250.

11 Daff M J and El-Giabmi A A, 1978: Effects of arbuscular mycorrhiza on plant growth. VIII. Effects of defoliation and light on selected hosts. New Phytol., 80:365～372.

12 Smith S E and Bowen G D, 1979: Soil temperation, mycorrhizal infection and nodulation of *Medicago truncatala* and *Trifolium subterraneum*. Soil Biol. Biochem., 11:469～473.

13 Andersson B Critchley C Ryrie I J, Jansson C, Larsso C and Anderson J M, 1984: Modification of the chloride requirement for photosynthetic O_2 evolution. The role of the 23 KDa polypeptide. FEBS Lett., 168:113～117.

14 Fitter A H, 1988: Water relations of red colver *Trifolium pratense* L. as affected by vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and phosphorus supply before and during drought. J. Exp. Bot., 30:595～603.

15 Gilmore A E, 1971: The influence of endotrophic mycorrhizae on the growth of peach seedlings. J. Am. Soc. Hort. Sci., 96:35～37.

16 Lambert D H, Barker D E and Cole H J R, 1979: The role of mycorrhizae in the interaction of phosphorus with zinc, copper and other elements. Soil Sci. Soc. Am. J., 43:976～980.

17 Thomson B D, Robson A D and Abbott L K 1992: The effect of long-term applications of phosphorus fertilizer on populatios of vesicular-arbuscular mycorrhiza fungi in pastures. Aust. J. Agric. Res., 43:1131～1142.

18 Amijee F, Stribley D P and Tinker P B, 1990: Soluble carbonhydrates in roots of leek (*Allium porrum*) plants in relation to phosphorus supply and vesicular-arbuscular mycorrhiza. Plant Soil, 124:195～198.

19 Ritz K and Newman E I, 1985: Evidence for rapid cycling of phosphorus from dying roots to living plants. Oikos, 45:174～180.

20 Ritz K and Newman E I, 1984: Movement of ^{32}P between intact grassland plants of the same age. Oikos, 43:138～142.

21 Heap A J and Newman E I, 1980: Links between roots by hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhiza. New Phytol., 85:169～171.

^{32}P TRANSFER VIA VA MYCORRHIZAL HYPHAE LINKS BETWEEN ROOTS OF RED CLOVER

Zhang junling Li Xiaolin Yang Zhifu

(College of Resou. and Envir. Sci., CAU, Beijing 100094)

Summary

By ^{32}P-labelled technique, five compartments with air gap was designed to examine time-course underground ^{32}P transfer via VAM hyphae links between roots of red clover and its effects on host red clover growth. Plants were harvested at 6 weeks, 8 weeks and 10 weeks after planting. The results demonstrated that ^{32}P can transfer between roots of red clover via VAM hyphae link and the total amount of ^{32}P transfer didn't show significance difference at different harvest times. Shoot dry weight of receiver red clover increased at the third harvest time due to the formation of VAM hyphae links between roots of donor and receiver plants. The factors which affected the ^{32}P transfer via VAM hyphae were also discussed.

Key words Hyphae links ^{32}P Underground nutrient transfer VA mycorrhiza Red clover