

doi: 10.11838/sfsc.20150620

丛枝菌根真菌对镉污染土壤中黑麦草幼苗生长的影响

张晓松^{1*}, 孟祥英², 王 薇¹, 孟春玲¹, 刘智强¹, 钱 朗¹, 王志军¹

(1. 大连市农业科学研究院, 辽宁 大连 116036; 2. 虎林市高级中学, 黑龙江 虎林 158400)

摘 要: 通过不同浓度的镉污染土壤接种丛枝菌根真菌的黑麦草盆栽试验, 研究了丛枝菌根真菌对镉污染条件下黑麦草幼苗生长的影响。结果表明: 重度镉污染 (Cd^{2+} : 180 mg/kg) 条件下, *Glomus mosseae* 对黑麦草根系的感染率仍达到 30.23%, 对黑麦草的生长有较好的促进作用; 丛枝菌根在一定程度上缓解了镉污染对黑麦草株高、根长和生物量积累的抑制; 镉污染显著降低黑麦草叶片的叶绿素含量, 叶绿素 a 在重度镉污染时下降幅度最大, 不接种丛枝菌根真菌的黑麦草较对照下降 37.9%, 而接种的黑麦草下降 26.7%, 接种菌根真菌在中重度镉污染条件下显著提高了黑麦草叶片的叶绿素含量; 重度镉污染下接种和不接种的黑麦草根系活力都开始显著下降, 但接种植株根系活力下降的幅度小于不接种植株。

关键词: 镉污染; 丛枝菌根真菌; 黑麦草; 幼苗生长

中图分类号: S154.3; S543+.6

文献标识码: A

文章编号: 1673-6257 (2015) 06-0122-06

土壤重金属污染会危及自然界生态平衡, 影响国民经济的可持续发展和人们的健康, 如何治理被污染土壤, 已成为国际上的研究重点。在已开展的重金属污染修复技术中, 生物修复是一条相对经济、便捷和安全的途径, 但是, 仅就重金属超量累积植物角度考虑, 已证明有其自身的局限性。

菌根 (Mycorrhiza), 是土壤菌根真菌感染植物营养根形成的一种共生联合体^[1], 被认为是植物与菌根真菌在长期生存过程中共同进化的结果。能够侵染植物根系并形成菌根的真菌称为菌根真菌 (Mycorrhizal fungus)。在菌根共生体中, 菌根真菌从植物体内获取必要的碳水化合物及其它营养物质, 同时植物也从真菌那里获取所需的养分和水分, 二者相互依存、互利互助并高度统一。它既有植物根系的一般特征, 又有专性真菌自身的特点。丛枝菌根 (AM) 真菌不仅对植物的矿质营养起到积极作用, 而且也能在逆境条件下增强宿主植物的抗 (耐) 性, 缓解重金属对植物造成的毒害。

黑麦草为一年生禾本科单子叶植物, 其再生能力强, 易于种植, 生物量较大, 抗病虫害能力强,

是重要的栽培牧草和绿肥作物, 具有较高的经济价值。有报道显示黑麦草对重金属具有很强的抗性, 且对重金属有蓄集作用^[2-3]。

本研究选择摩西球囊霉接种黑麦草, 通过 AM 真菌在镉污染土壤中黑麦草的应用, 探讨 AM 真菌对镉污染条件下黑麦草幼苗生长方面的影响。为黑麦草进一步的研究积累资料, 同时也为以后改善土壤环境做基础, 对生产实践也具有一定的指导意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2009 年 6~7 月在东北农业大学植物营养学实验室进行。供试土壤为林场低磷砂壤土 (表层 20 cm 以下)。土壤风干后过 2 mm 筛与河砂按 1:1 比例混合, 于高压灭菌锅内高温 (121℃) 灭菌 2 h, 以去除土壤土著菌根和其他微生物。

供试菌根菌种是 *Glomus mosseae*, 三叶草为宿主植物, 接种后繁殖 4 个月, 制得含有菌丝、孢子的根段和根际土壤。接种菌根处理每千克土样加入 50 g 菌种。

供试植物为黑麦草。种子使用前先用体积百分含量为 10% 的 H_2O_2 浸泡 10 min 以杀死种子表面的杂菌, 然后用无菌水冲洗, 置于光照培养箱中的无菌培养皿中催芽, 昼夜时间和温度分别设定为 12 h、25℃ 和 12 h、14℃。

收稿日期: 2014-09-17; 最后修订日期: 2014-11-24

作者简介: 张晓松 (1985-), 女, 黑龙江省哈尔滨市宾县人, 硕士研究生, 农艺师, 主要从事植物营养生理学研究。同时为通讯作者。E-mail: zxs 032@163.com。

1.2 试验设计

试验采用完全随机区组设计。设定 2 个因素：菌根和模拟镉污染。菌根有 2 个水平：接种和不接种；模拟镉污染有 Cd^{2+} 在土壤中终浓度分别为 0、30、90、180 mg/kg 的 4 个水平。称取 1.5 kg 灭菌土壤于 20 cm × 18 cm 的塑料培养钵中，分别加入一定浓度的 $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ 溶液，以得到 0、30、90、180 mg/kg Cd^{2+} 浓度水平的 Cd 污染土，充分混合后，加去离子水至田间持水量的 60% ~ 70%，温室内培养 1 个月，以平衡加入的 Cd^{2+} 。每个 Cd 浓度水平设对照、接种菌根 2 个处理，每个处理重复 3 次。试验开始时，接种菌根处理：每千克土壤加入 50 g 菌根菌种；无菌根处理：加入相同量的事先灭过菌的菌种；最后均匀地播种事先已萌发的黑麦草种子 20 颗；加入去离子水使土壤水分保持在田间持水量的 60% ~ 70%，并在土壤表面覆盖约 0.5 cm 厚灭菌粗河砂层以减少水分蒸发。试验在温室内，温度维持在 22 ~ 25℃，光照时间为 14 h/d，植株生长期间每周浇一次 1/5 含磷 Hoagland 营养液，共浇 3 次。培养 35 d 后开始首次测量，测定各项生长指标，每隔 10 d 测一次，共测试 5 次。

1.3 测定项目与方法

菌根侵染率的测定：洗净的鲜根放于甲醛-冰醋酸-乙醇 (12.5:12.5:200 体积比) 固定液中保存。临测定时，根用自来水冲洗干净并剪成 1 cm 长的根段，随机选取部分根段浸入 5% 体积比的 KOH 溶液中，于 90℃ 水浴锅内放置 30 min，取出后用自来水轻轻冲洗数遍，然后根段放入 0.05% (w/v) 台盼蓝 (Trypan blue) 染色液 (石炭酸 300 g，乳酸 250 mL，甘油 250 mL，蒸馏水 300 mL，台盼蓝 0.5 g) 中，并用水分色，染色完成后，根段做成玻片 (真菌组织染成蓝色)，在显微镜下用修正的十字交叉法测定根被侵染的比率 (菌根侵染率)^[4]。菌根侵染率 (%) = 形成丛枝的根段/测定的根段数 × 100

处理 5 周后用常规方法测定黑麦草幼苗的株高、根长及 10 株幼苗的叶片生物量和根系生物量。

叶绿素含量以及根系活力测定均采用张志良^[5]的方法。

2 结果与分析

2.1 镉污染对 AM 真菌侵染的影响

随镉污染浓度的增加，AM 真菌对黑麦草根系

的侵染率显著降低 (图 1)，菌根侵染率表现为对照 (Cd^{2+} : 0 mg/kg) > 轻度镉污染 (Cd^{2+} : 30 mg/kg) > 中度镉污染 (Cd^{2+} : 90 mg/kg) > 重度镉污染 (Cd^{2+} : 180 mg/kg)；在中度镉污染和重度镉污染时，接种 AM 对黑麦草根系的侵染率较对照处理显著降低，但在重度镉污染条件下，也有 30.23% 的黑麦草根系受到侵染。此外，在不接种处理的黑麦草根系中也检测到菌根侵染发生，但从侵染程度上来看，基本上可以忽略，这可能由于培养周期长，出现交叉污染导致。

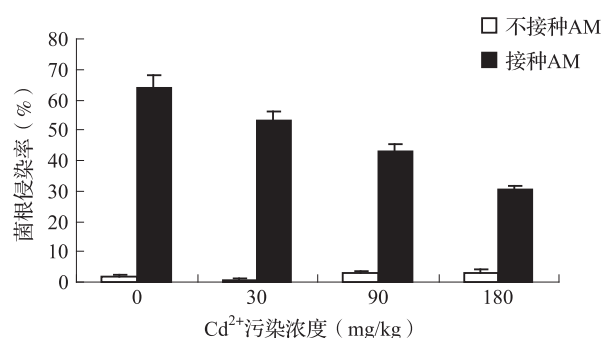


图1 Cd^{2+} 污染对黑麦草菌根侵染率的影响

2.2 镉污染土壤中接种 AM 真菌对黑麦草株高的影响

从图 2 和图 3 中可以得出，在同一镉污染浓度下，接种植株的株高高于不接种植株，说明在镉污染条件下，AM 真菌对植株生长有促进作用，很大程度上提高了黑麦草对镉污染的耐受能力。轻度 Cd 污染时，接种与不接种植株的株高均高于对照；中度 Cd 污染和重度 Cd 污染时，无论接种与否镉胁迫都降低了黑麦草的株高，尤其是在重度镉污染时，与对照相比达到了显著差异水平，说明轻度镉污染时促进黑麦草的生长，而重度镉污染时抑制了黑麦草的生长。在对照、轻度 Cd 污

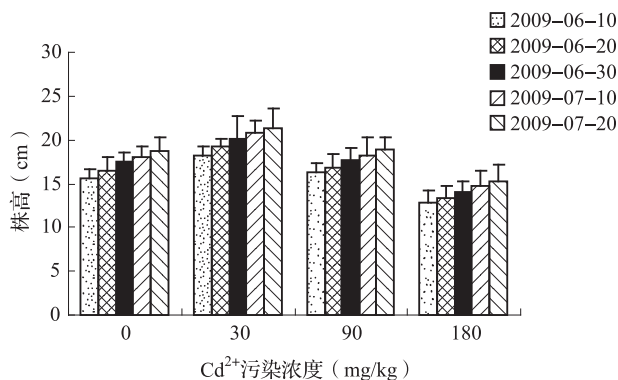


图2 Cd^{2+} 污染对不接种 AM 真菌黑麦草株高的影响

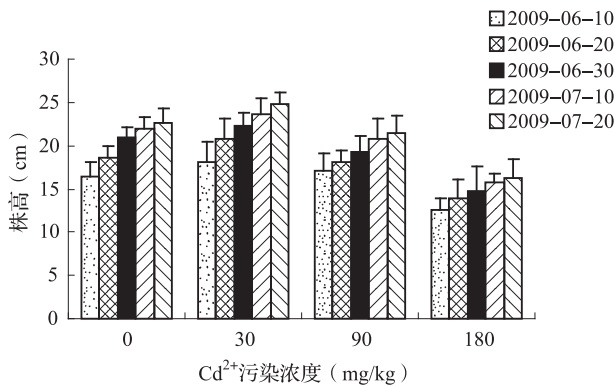


图3 Cd^{2+} 污染对接种 AM 真菌黑麦草株高的影响

染、中度 Cd 污染和重度 Cd 污染时,随着处理时间的增加,接种和不接种植株的高度都有增加的趋势,但随着镉污染浓度的增加,这种增加的幅度越来越小。

2.3 镉污染土壤中接种 AM 真菌对黑麦草根长的影响

植物根系是吸收养分和水分的生物界面,营养元素的运输全靠植物的根系,大量研究表明,根系首先可以感知土壤中重金属毒害,根系的发育状况决定着植株后期的生长好坏,与植物地上部分的生长有着密切的关系,因此根长是根系发育情况最直观的指标;同时研究表明,根系又是积累重金属的关键部位,所以根系的生长在植株表达重金属的胁迫作用方面有一定的意义^[6]。

不接种处理中,不同 Cd^{2+} 污染浓度处理对黑麦草根长有着明显的影响(图4),根长随着 Cd^{2+} 浓度的增加,整体呈下降的趋势,当重度 Cd 污染时,根长最高下降 45.3%,根的生长受到明显抑制,显著低于对照;在对照、轻度 Cd 污染、中度 Cd 污染和重度 Cd 污染时,随着处理时间的延长,根长都有增加的趋势,但随着污染浓度的增加,根长增加的幅度减小,表明根长增加的速率与镉污染

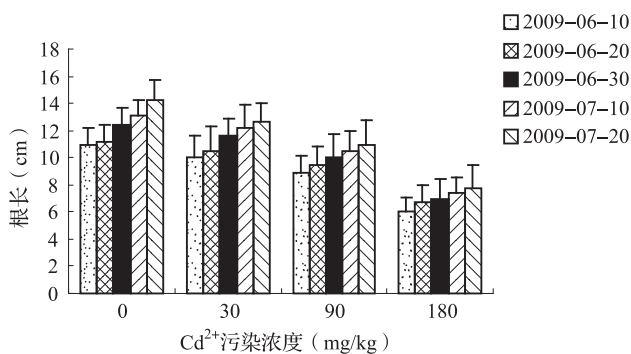


图4 Cd^{2+} 污染对不接种 AM 真菌黑麦草根长的影响

浓度呈负相关。

接种处理中(图5),整体上黑麦草根长较不接种有显著的提高,当重度 Cd 污染时,与对照相比,根长最高下降 31.2%,而不接种处理下降了 45.3%,说明接种 AM 真菌对植株的根生长抵抗 Cd^{2+} 污染有一定的促进作用。

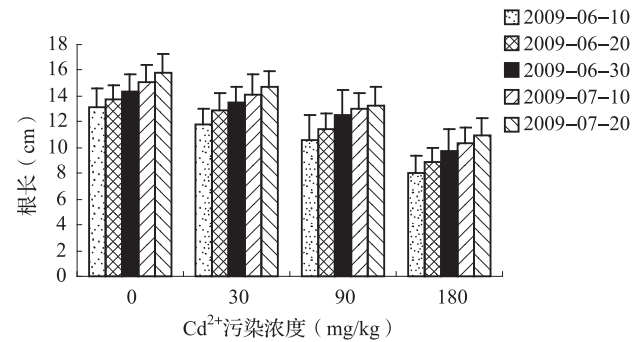


图5 Cd^{2+} 污染对接种 AM 真菌黑麦草根长的影响

2.4 镉污染土壤中接种 AM 真菌对黑麦草生物量的影响

生物量是植物受重金属伤害后的植株本身发生变化的最直接表现指标之一,生物量的多少在一定程度上能体现出植株受毒害的程度。

不接种处理中(图6),黑麦草全生物量的总体变化趋势是先升高后下降,在轻度 Cd 污染时,植株全生物量均高于对照;在中度 Cd 污染时,生物量较对照差异不明显;随着镉污染浓度的增大和时间的延长,抑制作用也更加明显,原因是随着黑麦草对重金属镉的积累, Cd^{2+} 经根吸收积累到一定值后,叶片组织内开始产生大量氧自由基,过量的氧自由基对叶绿素结构产生了破坏作用,导致叶绿素含量下降,光合作用减弱,从而降低了植物鲜重^[7]。

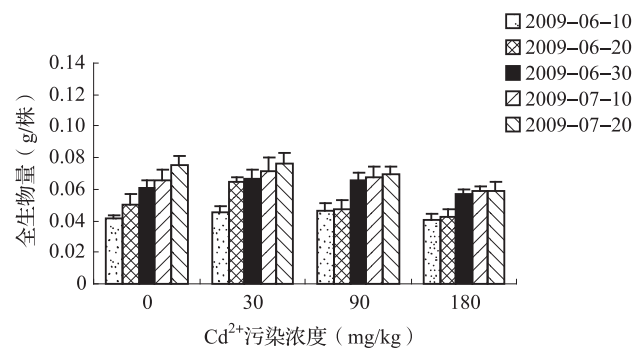


图6 Cd^{2+} 污染对不接种 AM 真菌黑麦草全株生物量的影响

接种处理中(图7),黑麦草全生物量的变化趋势是先上升后下降,在轻度 Cd 污染时,生物量

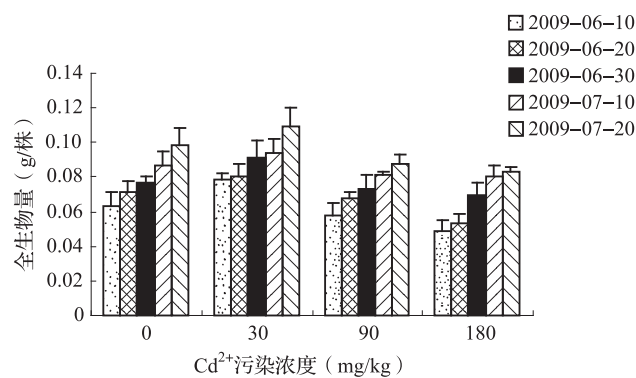


图7 Cd²⁺污染对接种AM真菌黑麦草全株生物量的影响

高于对照,说明低浓度重金属对植物生长有促进作用;与对照相比,接种处理生物量最高上升27.5%,不接种处理最高上升了19.3%,表明接种

对黑麦草生物量的促进作用更为明显,原因是土壤接种AM后,一定程度上提高植株抵抗重金属毒害的最低浓度。重度Cd污染时,全生物量开始明显下降,与对照相比最高下降16.1%,不接种处理中最高下降24.3%,所以接种植株生物量较不接种植株有所增加。

2.5 镉污染土壤中接种AM真菌对黑麦草叶绿素含量的影响

叶绿素是植物进行光合作用的色素,绝大多数的叶绿素a和全部的叶绿素b具有收集光能的作用,叶绿素含量高低在一定程度上反映了植物光合作用的高低。重金属镉抑制植物生长的同时,也对叶绿素含量产生了一定的影响(表1)。

表1 镉污染土壤中接种AM真菌对黑麦草叶绿素含量的影响

菌根处理	镉污染浓度 (mg/kg)	叶绿素 a (mg/g)	叶绿素 b (mg/g)	叶绿素总量 (mg/g)
不接种	0	3.34 ± 0.071a	1.00 ± 0.026b	4.34 ± 0.046a
	30	2.98 ± 0.140b	1.11 ± 0.017a	4.09 ± 0.124b
	90	2.46 ± 0.068c	0.90 ± 0.023c	3.36 ± 0.088c
	180	2.07 ± 0.024d	0.76 ± 0.023d	2.83 ± 0.042d
接种	0	3.73 ± 0.161a	1.05 ± 0.044b	4.78 ± 0.123a
	30	3.37 ± 0.084b	1.18 ± 0.095a	4.55 ± 0.141b
	90	3.04 ± 0.022c	0.98 ± 0.100b	4.02 ± 0.028c
	180	2.82 ± 0.085d	0.87 ± 0.016c	3.70 ± 0.075d

注:小写字母表示0.05水平的差异显著性。下同。

试验结果表明,土壤中添加镉,会影响黑麦草叶片叶绿素含量。从表1中可以看出,接种AM真菌的植株叶绿素a、叶绿素b和叶绿素总含量均高于不接种植株,与叶绿素b相比,叶绿素a受到镉的影响更为显著;随着Cd²⁺污染浓度的增大,接种和不接种黑麦草叶片的叶绿素a、叶绿素b和叶绿素总含量均呈现降低的趋势,不接种的黑麦草在重度Cd污染时叶绿素a含量下降幅度最大,较对照下降37.9%;接种的黑麦草在重度Cd污染时叶绿素a含量下降幅度也最大,较对照下降26.7%,可见,接种可以减

轻Cd²⁺污染对叶绿素a的降解。由表2可知,在中度Cd污染和重度Cd污染时,接种AM真菌植株的叶绿素a、叶绿素b和叶绿素总含量与不接种植株有显著差异;在对照中,接种的植株叶绿素a和叶绿素总量显著高于不接种植株;在轻度Cd污染时,接种的植株的叶绿素a、叶绿素b和叶绿素总含量与不接种植株都没有显著差异。以上结果表明,镉污染在一定程度上降低了黑麦草叶片的叶绿素含量,而在中度镉污染和重度镉污染时接种菌根真菌显著提高了黑麦草叶片叶绿素含量。

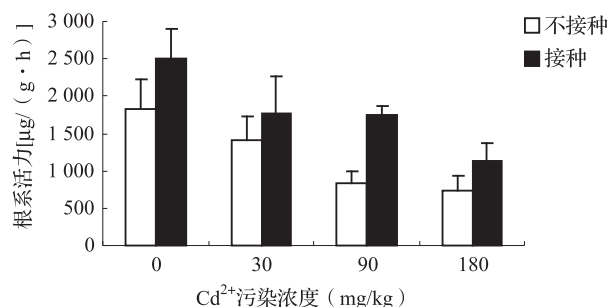
表2 同一镉浓度处理下接种与不接种 AM 真菌的黑麦草叶片叶绿素含量差异比较

镉污染浓度 (mg/kg)	菌根处理	叶绿素 a (mg/g)	叶绿素 b (mg/g)	叶绿素总量 (mg/g)
0	不接种	3.34 ± 0.071a	1.00 ± 0.026a	4.34 ± 0.046a
	接种	3.73 ± 0.161b	1.05 ± 0.044a	4.78 ± 0.123b
30	不接种	2.98 ± 0.140a	1.11 ± 0.017a	4.09 ± 0.124a
	接种	3.37 ± 0.084a	1.18 ± 0.095a	4.55 ± 0.141a
90	不接种	2.46 ± 0.068a	0.90 ± 0.023a	3.36 ± 0.088a
	接种	3.04 ± 0.022b	0.98 ± 0.100b	4.02 ± 0.028b
180	不接种	2.07 ± 0.024a	0.76 ± 0.023a	2.83 ± 0.042a
	接种	2.82 ± 0.085b	0.87 ± 0.016b	3.70 ± 0.075b

2.6 镉污染土壤中接种 AM 真菌对黑麦草根系活力的影响

根系是植物吸收养分和水分的主要器官,具有吸收矿质养分的功能,而且还能合成氨基酸、植物激素等。重金属污染土壤时,根系是植物与重金属接触的直接部位,首先感应土壤重金属毒害,植物根系活力水平直接反映重金属污染下根系的生理代谢活力,根系活力水平还会影响植物地上部的生长和营养状况。

从图8中可以看出,随着Cd污染浓度的升高,接种和不接种AM真菌黑麦草的根系活力都有降低的趋势,但接种植株根系活力下降的幅度小于不接种植株。不接种AM真菌的黑麦草,在轻度Cd污染时,与对照间差异不显著;在中度Cd污染和重度Cd污染时与对照之间达到了显著差异水平。接种AM真菌的黑麦草,在轻度Cd污染和轻度Cd污染时,与对照间差异不显著;重度Cd污染时与对照之间达到了显著差异水平,但这3个污染水平之间黑麦草的根系活力无显著差异性。在同一镉污染浓度下,轻度Cd污染时,接种和不接种植株间的根系活力没有显著差异性;中度Cd污染和重度Cd污染时,接种和不接种植株间的根系活力达到显著差异水平。

图8 Cd²⁺污染土壤中接种 AM 真菌对黑麦草根系活力的影响

3 结论与讨论

一些试验表明,土壤中重金属含量过高会显著降低菌根真菌对三叶草、玉米根系的侵染强度。Weissenhorn 等^[7]研究也发现,提高镉的水平会抑制菌根真菌的侵染,甚至在尚不影响植物生长的镉污染水平下,菌根侵染率也有所减少。本试验结果表明,在轻度Cd污染时,菌根侵染率已显著受到抑制,但侵染率仍有52.92%;在重度Cd污染时,菌根侵染率依然有30.23%,说明AM真菌对镉污染有一定的抗性。

不同处理的植株株高、根长和生物量的结果表明,不同的土壤镉污染程度能较为明显地影响黑麦草的生长,株高、根长、生物量均在重度Cd污染时表现最低。无论接种与否,植株的株高、生物量均随土壤镉污染浓度的增加表现较为一致的变化趋势。从对照到轻度Cd污染,黑麦草植株株高和生物量呈增加趋势,当超过中度Cd污染时,株高和生物量呈下降趋势;而黑麦草的根长则随着土壤镉污染浓度的增加不断减少。接种处理的植株在株高、根长、生物量上都高于对照,说明接种菌根真菌后,能显著地缓解重金属镉对植物的毒害,促进了宿主植物的生长,保证了植物能在镉污染胁迫下的生长和对营养元素的利用,提高宿主植物对土壤镉污染的抗性;而对照则缺少这种有效的防护机制,植株因受到重金属毒害而使其生长受到较大的抑制。

叶绿素是黑麦草光合作用的基础物质,叶片中叶绿素含量的高低是反映黑麦草光合能力的一个重要指标。本试验结果表明,土壤中添加镉,会影响黑麦草叶片叶绿素含量。与叶绿素b相比,叶绿素a受到镉的影响更为显著;随着Cd²⁺污染

浓度的增大, 接种和不接种黑麦草叶片的叶绿素 a、叶绿素 b 和叶绿素总含量均呈现降低的趋势, 镉污染在一定程度上降低了黑麦草叶片的叶绿素含量, 而在中度镉污染和重度镉污染时接种菌根真菌显著提高了黑麦草叶片叶绿素含量, 说明接种对较高浓度的镉污染的植株具有较好的修复效果, 能提高植株叶绿素的含量, 从而保证植物光合作用的正常运行。

植物根系活力水平直接反映重金属污染下根系的生理代谢活力。本试验中, 随着 Cd 污染浓度的升高, 接种和不接种 AM 真菌黑麦草的根系活力都有降低的趋势。中度 Cd 污染和重度 Cd 污染时, 接种和不接种植株间的根系活力达到显著差异水平。这说明在镉污染浓度较高的情况下, 接种菌根真菌一定程度上提高了植物根系抵抗镉污染的能力。

镉污染抑制了黑麦草的生长, 在不同镉污染处理下接种 AM 真菌促进了黑麦草的生长, 说明就植物的生长方面来说, 接种 AM 真菌赋予黑麦草一定的抗镉毒特性, 使得镉对黑麦草的毒害作用大大减轻, 提高宿主植物在重金属污染土壤中的生存指数。

Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth of ryegrass seedling in cadmium contaminated soils

ZHANG Xiao-song^{1*}, MENG Xiang-ying², WANG Wei¹, MENG Chun-ling¹, LIU Zhi-qiang¹, QIAN Lang¹, WANG Zhi-jun¹ (1. Dalian Academy of Agriculture Sciences, Dalian Liaoning 116036; 2. Senior High School of Hulin City, Hulin Heilongjiang 158400)

Abstract: The effects of arbuscular mycorrhizal fungi on growth of ryegrass seedling were studied in cadmium contaminated soils by pot method. The results showed that: in severe pollution of Cd (Cd^{2+} : 180 mg/kg) condition, the infection rate of *Glomus mosseae* on ryegrass root was 30.23%, and it had good effect on the growth of ryegrass. The arbuscular mycorrhizal colonization alleviated the inhibition of cadmium pollution on ryegrass plant height, root length and biomass accumulation to a certain extent. Cadmium significantly reduced the chlorophyll content of ryegrass, the concentration of chlorophyll a was the lowest in severe Cd contamination treatment, and it decreased by 37.9% and 26.7% respectively in the treatment of not inoculated ryegrass and the treatment with the inoculation of ryegrass, compared with the control. Mycorrhizal inoculation significantly increased the chlorophyll content of ryegrass in both moderate and severe pollution of cadmium. Whether inoculation or not, the plant root activity were significantly decreased in severe cadmium contamination. but the vigor of plant root in inoculated plants decreased less than those of non-inoculated plants.

Key words: cadmium pollution; arbuscular mycorrhizal fungi; ryegrass; seedling growth

参考文献:

- [1] Frank A B. Ueber die auf wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische pilze [J]. Ber. Deut. Bot. Ges., 1885, 3: 128–145. (translated by Trappe J M. On the root symbiosis – depending nutrition through hypogeous fungi of certain trees [C]. 6th NACDM Proceeding, 2005. 18–25.)
- [2] Xu W H, Xiong Z T, Huang H. Effects of Zn stress on Zn accumulation and anti – oxidant enzymes activity in four varieties of ryegrass [J]. Wuhan University Journal of Natural Sciences, 2005, 10 (6): 1051–1056.
- [3] 廖敏, 黄昌勇. 黑麦草生长过程中有机酸对镉毒性的影响 [J]. 应用生态学报, 2002, 13 (1): 109–112.
- [4] McGonigle T P, Miller M H, Evans D G, et al. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular – arbuscular mycorrhizal fungi [J]. New Phytol., 1990, 115: 495–501.
- [5] 张志良. 植物生理学实验指导 (第二版) [M]. 北京: 高等教育出版社, 1990. 39–160.
- [6] 赵鲁, 李旭军, 刘安辉, 等. 大豆和小麦对土壤中镉的吸收与富集研究 [J]. 中国土壤与肥料, 2013, (5): 66–70.
- [7] 魏花朵, 李悦, 陈忠林, 等. 氮肥对镉胁迫下结缕草光合和叶绿素荧光特性的影响 [J]. 中国土壤与肥料, 2015, (4): 88–92.
- [8] Weissenhorn I, Mench M, Leyval C. Bioavailability of heavy metals and arbuscular mycorrhizas in a sewage sludge amended sandy soil [J]. Soil Biol Biochem, 1995, 27: 287–296.