

# 外生菌根对欧洲赤松苗(*Pinus sylvestris*) Cu、Zn 积累和分配的影响\*

黄艺, 陶澍, 陈有鑑, 张学青(北京大学城市与环境学系, 北京 100871, E-mail: yhuang@urban.pku.edu.cn)

**摘要:** 通过测定 2 种不同施锌和施铜水平下苗木和离体菌丝中铜锌含量, 研究了接种外生菌根(*Suillus bovinus*)对欧洲赤松(*Pinus sylvestris*)苗木生长和微量元素积累和分配的影响。结果表明, 菌丝的侵染增加了苗木生长, 同时也增加了植物体内重金属的含量。然而, 菌根植物中的重金属大部分分布在根部, 在铜处理中菌根植物地下部分的铜含量是无菌根植物的 2.6 倍, 在锌处理中锌是无菌根植物的 1.3 倍。说明菌丝侵染使植物将过量的重金属滞留在根部, 从而增加了植物对过量重金属的抗性。通过进一步测定培养在过量重金属中的离体菌丝的重金属含量, 结果显示随着外界重金属浓度的增加, 菌丝分泌物内重金属含量比菌丝内重金属含量增加快, 说明滞留在根部的重金属可能并没有进入根系而是以某种形态滞留在菌丝分泌物和菌丝内。

**关键词:** 重金属, 菌根菌, 菌根, 欧洲赤松苗, 积累与分配。

中图分类号: X173 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2000)02-0001-06

## Accumulation and Distribution of Cu and Zn in Mycorrhizal *Pinus sylvestris* and Its Associated Ectomycorrhizal Fungus *Suillus bovinus* Exposed to Elevated Cu and Zn Concentrations in Cultivating Substrate\*

Yi Huang, Shu Tao, Youjian Chen, Xueqing Zhang(Department of Urban and Environmental Sciences, Peking University, Beijing 100871, China E-mail: yhuang@urban.pku.edu.cn)

**Abstract** Seedlings of *Pinus sylvestris* infected with ectomycorrhizal fungi *Suillus bovinus* were exposed to various external Cu and Zn concentrations separately. The isolated ectomycorrhizal fungi *Suillus bovinus* were cultivated in the elevated Cu and Zn concentrations nutrient solution as well. The effects of mycorrhizal association on Cu and Zn accumulation and distribution within plant and in the isolated fungi mycelia culture(nutrient, mycelia and fungislim) were determined by atomic absorption spectrometry. The results showed that mycorrhizal infection increased both biomass and contents of Cu and Zn of seedlings. However, excess Cu and Zn were accumulated in the root system. Treating with external Cu and Zn separately, Cu concentration was 2.6 times in the roots of mycorrhizal seedlings compared with non-mycorrhizal ones and Zn was 1.3 times. These data indicated that mycorrhizal symbiosis increased the capacity of heavy metal depot in roots of host plant, therefore increased the tolerance of host plant to elevated heavy metal in environment. Determining the isolated fungi, the results showed that the contents of Cu and Zn were increased with the increasing of concentration of them in nutrient solution. Comparing with fungi mycelia, the increase of content of heavy metals in fungi mycelia slim was greater, that suggested that the heavy metals depot in root system probably were not translated into plant roots but sequestered in fungi mycelia and mycelia slim.

**Keywords:** heavy metal, ectomycorrhizae, ectomycorrhizal fungous, *Pinus sylvestris*, accumulation and distribution.

\* 国家自然科学基金资助项目(Project Supported by the National Natural Science Foundation of China): 39870611 与国家杰出青年基金资助项目: 49525102  
作者简介: 黄艺(1964~), 女, 1997 年在德国 Bielefeld 大学获自然科学博士, 现为北京大学城环系博士后。主要研究方向为环境污染对生物生理生态的影响。  
收稿日期: 1999-05-26

菌根不但能增加其寄主植物对土壤中常量营养元素的吸收<sup>[1]</sup>, 同时许多研究显示菌根同样能增加寄主植物对 Cu、Zn 等微量元素的吸收<sup>[2, 4]</sup>. 与非菌根植物相比, 这些对过量重金属具强忍耐力的有菌根植物, 其地上部分的重金属含量下降, 地下部分的含量增加, 且植物体内总重金属含量减少<sup>[5-7]</sup>. 然而, Jones 和 Hutchinson<sup>[8]</sup>在研究 *Betula papyrifera* 的外生菌根和 Dueck<sup>[9]</sup>研究 VAM 菌根时发现, 菌根菌非但没有增强其寄主植物对重金属的抗性, 反而加重了植物受毒害的程度.

探讨菌根增强寄主植物对过量重金属的抗性的可能性和机理时, 有些学者认为是菌丝积累了过量重金属<sup>[6, 7, 10]</sup>, 有的学者认为是菌根菌丝通过物理或化学作用阻碍了重金属进入植物体<sup>[5, 6, 7]</sup>. 虽然各实验的结果不相同, 但根据目前研究成果可以看出, 影响重金属进入植物体内以及在植物体内分布的因子直接影响着植物对重金属的抗性.

本研究通过对污染状况下非菌根植物、菌根植物和分离菌根菌中重金属分布的测定, 研究菌根菌对其寄主植物体内重金属积累和分布的影响, 据此探讨菌根植物对重金属的抗性机理.

1 实验材料和方法

露白的欧洲赤松 (*Pinus sylvestris*) 在人工生长室 (13h 光照, 8000lx, 25℃; 11h 黑暗, 18℃; 空气相对湿度 55%) 培养 4 周, 每周浇 1

次全营养液. 然后将外生菌根菌牛乳杆菌 (*Suillus bovinus*) 的菌丝悬浮液拌在部分苗木的培养基质中接种. 接种和未接种的苗木在同样的生长条件下培养 6 周, 接种率在 50%. 然后分别浇上混有 25mg/L 和 100mg/L CuSO<sub>4</sub>, 及 250mg/L 和 1000mg/L ZnSO<sub>4</sub> 的营养液. 再生长 4 周后, 分别按地上部分 (针叶+ 茎) 和地下部分 (根+ 菌根) 采样. 样品在 105℃ 干燥 12h, 测定干重, 然后取 4g 干样用 20ml 浓硝酸在 170℃ 的烘箱内硝化 6h, 所得的溶液定容到 20ml, 用原子吸收分光光度计测定其中的重金属含量.

*Suillus bovinus* 在同上所述不同浓度的 Cu 和 Zn 营养液中培养 1 星期, 取样前将营养液用蒸馏水定容到初始量 (补足蒸发的水). 过滤营养液收集容器内所有菌丝, 并用蒸馏水冲洗菌丝表面, 用真空水泵抽干菌丝表面的水并将冲洗菌丝的水定容到 100ml. 分别收集菌丝、营养液和冲洗菌丝表面的水, 用上述同样的方法对样品硝化. 用原子吸收分光光度计测定其中的重金属含量.

2 结果与讨论

2.1 无污染条件下菌根对植物体 Cu、Zn 吸收和分配的影响

以 Kottke<sup>[11]</sup>等给出的全营养液中 Cu 和 Zn 的含量为正常生长状况对照, 2 种处理条件下植物 Cu 和 Zn 的含量列于表 1.

表 1 菌根和无菌根 *Pinus sylvestris* 干物质生长量/mg·株<sup>-1</sup>和重金属含量/μg·株<sup>-1</sup>

| 处理 | 无菌根植物           |           | 菌根植物           |            |
|----|-----------------|-----------|----------------|------------|
|    | 生物量             | 重金属含量     | 生物量            | 重金属含量      |
| 铜  | 对照 (1.25mg/L)   | 86.87±3.7 | 31.59±1.01     | 97.79±4.4  |
|    | 处理 1 (25mg/L)   | 97.59±3.0 | 89.20±5.11     | 83.46±4.2  |
|    | 处理 2 (100mg/L)  | 64.89±1.8 | 296.50±23.72   | 72.39±3.1  |
| 锌  | 对照 (5.75mg/L)   | 86.87±3.7 | 184.71±6.59    | 97.79±4.4  |
|    | 处理 1 (250mg/L)  | 81.71±2.2 | 1677.87±134.23 | 91.95±3.15 |
|    | 处理 2 (1000mg/L) | 66.72±2.2 | 4876.34±360.45 | 75.92±3.04 |

与无菌根植物相比, 接种后的菌根植物, 无论是整株植物干物质积累还是植物的重金属含量均高于无菌根植物. 其中菌根植物中 Zn 的含量是无菌根植物中 Zn 含量的 1.1 倍, Cu 为

1.5 倍. 这一结果说明菌根能促进寄主植物对 Cu 和 Zn 这 2 种植物生长必须元素的吸收. 菌根植物的生物量是无菌根植物的 1.13 倍, 说明在重金属浓度较低的生长环境中, 菌根通过增加寄主植物对这 2 种微量元素的吸收, 促进了植物生长. 该结果与其他学者的发现一致<sup>[12~14]</sup>.

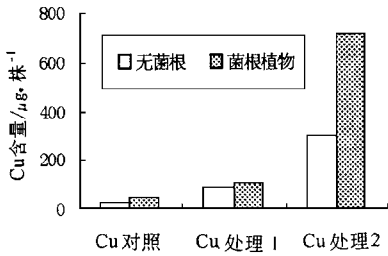


图1 菌根侵染对 *Pinus sylvestris* 微量元素 Cu、Zn 含量的影响

图1中结果显示, 当外界有过量 Cu 存在时, 菌根菌并不能象一些学者假设的那样改变根部的外界环境, 将过量重金属阻止在植物体外<sup>[1]</sup>, 而是保持其增加寄主植物对重金属元素吸收的特性. 但从生物量测定结果看(表1), 这样的作用并未影响苗木生长. 除 Cu 处理1的有菌根苗木生物量小于无菌根苗木外, 其余处理中有菌根苗木生物量都明显大于无菌根苗木. 这一结果说明菌根虽然增加了寄主植物对重金属的吸收, 但可能通过某种方式减轻了过量重金属对寄主植物的毒害. 这与 Dixon 和 Buschna 及 Colpaert 等的结果一致<sup>[5,10]</sup>.

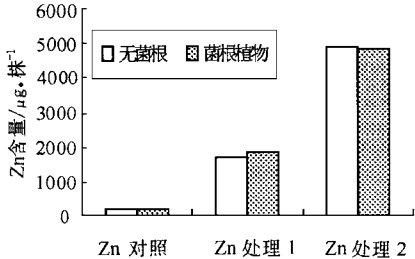
2.3 过量 Cu、Zn 条件下菌根对植物体内 Cu、Zn 分配的影响

在过量 Cu 和 Zn 条件下生长的苗木的地上部分(针叶和茎)和地下部分(根及根和菌根混合根)中 Cu、Zn 实测含量列于表2.

表2结果显示, 无论有菌根还是无菌根苗木, 地下部分的 Cu、Zn 浓度显著高于地上部分. 但是, 随着外界 Cu、Zn 浓度增加, 有菌根苗木地下部分 Cu、Zn 浓度的增加幅度要比无菌根苗木地上部分高得多. 例如, 在对照中, 无菌根苗木地下部分的 Cu 浓度是地上部分的 4.9 倍, 在处理2中达到 7.7 倍; 而对照的有菌根苗

2.2 过量 Cu、Zn 条件下菌根对植物体 Cu、Zn 积累的影响

在过量 Cu、Zn 存在的情况下, 无论是无菌根植物还是菌根植物, 植物体内 Cu、Zn 的含量都随环境中浓度的增加而增加. 且除 Zn 处理2外菌根植物的增加量较无菌根植物的增加量大(图1).



木地下部分的 Cu 浓度是地上部分的 7.4 倍, 在处理2中高达 64.7 倍. Zn 在苗木中的积累也具有同样的趋势.

分析地上部分 Cu、Zn 浓度可以看出 Cu 在菌根苗木地上部分的积累在处理1中并没有随外界 Cu 浓度的增加而增加, 反而略有下降. 在处理2中, Cu 增加的幅度也远小于无菌根苗木(图2), 说明菌根使吸收的过量 Cu 滞留在根部而没有转运到植物的地上部分, 从而有效地防止了 Cu 对植物光合作用的破坏. 相对于 Cu, 转移到地上部分的 Zn 较多. 在处理1中, 菌根苗木地上部分的 Zn 含量比无菌根苗木多 47%. 当外界 Zn 浓度进一步升高到处理2的浓度时, 无菌根植物地上部分的绝对 Zn 含量上升到与有菌根植物的绝对 Zn 含量相当的水平(表2), 而在有菌根植物中 Zn 含量却没有继续大幅度上升, 使得在处理2中的相对 Zn 浓度比无菌根植物小(图2). 这可能是由于 Zn 是叶绿素合成的必须元素, 也是许多存在于叶中的酶结构元素, 因此在植物的地上部分需要量很高所至<sup>[16,17]</sup>. 当外界浓度相对较低时, 菌根促进寄主植物对 Zn 的吸收和转运, 使地上部分的 Zn 浓度迅速达到最大, 导致菌根植物地上部分 Zn 含量比无菌根植物高. 在浓度过高

的情况下, 菌根使过量 Zn 滞留在根部, 减弱其对植物的毒害作用.

2.4 重金属 Cu、Zn 在菌丝培养体系中的积累和分布

为了解滞留在菌根苗木根部的 Cu 和 Zn 积累在菌根菌内的可能部位, 将接种的外生菌根菌 *Suillus bovinus* 单独培养在与苗木实验中同样 Cu、Zn 处理浓度的营养液中 1 周, 测得结果列于表 3.

菌丝在营养液中生长 1 周后, 对照营养液中 Cu 的 83% 和 Zn 的 75% 被菌丝吸收到细胞

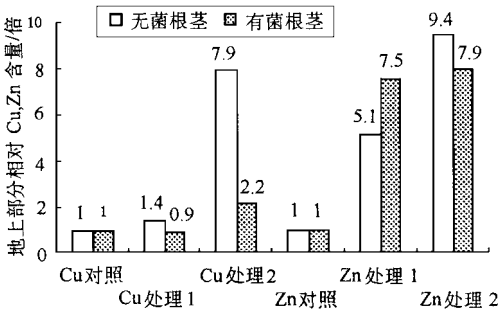


图 2 菌根侵染对欧洲赤松地上部分微量元素 Cu、Zn 含量的影响

表 2 有菌根和无菌根欧洲赤松 (*Pinus sylvestris*) 苗木地上与地下部分 Cu、Zn 含量/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$

| 处理 | 无菌根植物          |                 | 菌根植物           |                  |
|----|----------------|-----------------|----------------|------------------|
|    | 地下部分           | 地上部分            | 地下部分           | 地上部分             |
| 铜  | 对照(1.25mg/L)   | 52.75±1.37      | 10.77±0.65     | 87.98±7.57       |
|    | 处理 1(25mg/L)   | 232.99±13.98    | 14.80±0.52     | 251.42±15.09     |
|    | 处理 2(100mg/L)  | 659.46±52.76    | 85.16±6.81     | 1728.82±171.84   |
| 锌  | 对照(5.75mg/L)   | 263.16±10.00    | 107.50±3.23    | 315.40±37.85     |
|    | 处理 1(250mg/L)  | 3254.35±260.35  | 545.63±43.65   | 2969.63±148.48   |
|    | 处理 2(1000mg/L) | 11428.80±800.02 | 1011.53±101.20 | 14712.43±1618.37 |

表 3 过量 Cu 和 Zn 培养液中单独培养的 *Suillus bovinus* Cu 和 Zn 含量

| 处理 | Cu、Zn 含量/ $\text{mg} \cdot \text{培养}^{-1}$ |              |                 | 生物量/ $\text{g} \cdot \text{培养}^{-1}$<br>(菌丝鲜重) |
|----|--------------------------------------------|--------------|-----------------|------------------------------------------------|
|    | 菌丝                                         | 菌丝分泌物        | 营养液             |                                                |
| 铜  | 对照(1.25mg/L)                               | 0.0315±0.003 | 0.00136±0.00005 | 0.00525±0.0004                                 |
|    | 处理 1(25mg/L)                               | 0.211±0.01   | 0.037±0.002     | 0.568±0.016                                    |
|    | 处理 2(100mg/L)                              | 0.306±0.008  | 0.0816±0.004    | 3.96±0.012                                     |
| 锌  | 对照(5.75mg/L)                               | 0.134±0.007  | 0.003±0.00004   | 0.0417±0.001                                   |
|    | 处理 1(250mg/L)                              | 0.735±0.044  | 1.10±0.044      | 5.70±0.205                                     |
|    | 处理 2(1000mg/L)                             | 1.173±0.035  | 2.39±0.115      | 26.46±0.794                                    |

中, 营养液中分别留下 14% 和 23%. 但营养液中 Cu、Zn 浓度升高后, 残留在营养液中的 Cu、Zn 也随之增加. 在处理 2 中, 绝大部分 Cu、Zn (91%, 88%) 留在营养液中(表 3). 比较菌丝和菌丝分泌物在不同处理中的重金属含量, 该菌对 Cu、Zn 有不同反应. 随着外界 Cu 浓度的增加, 菌丝内 Cu 含量急剧增加. 在处理 1 菌丝中

Cu 是菌丝分泌物中 Cu 的 5.7 倍, 在处理 2 中为 12 倍. 而 Zn 的情况却相反, 菌丝分泌物中 Zn 随外界 Zn 浓度的增加而急剧增加, 在处理 1 中菌丝 Zn 含量为菌丝分泌物的 75%, 在处理 2 中, 菌丝中 Zn 的浓度为菌丝分泌物中 Zn 的 49%(表 3). 许多研究证实, 菌根菌对不同的重金属表现出不同的忍耐力<sup>[12]</sup>. Colpaert 和

Van Assche<sup>[10,17]</sup>认为 *Suillus bovinus* 对 Zn 有较强的抗性. 上述结果或许暗示该外生菌根菌对重金属的抗性与菌丝分泌物对重金属的固定能力有密切关系.

然而, 以对照组 Cu、Zn 含量为基准分别计算各处理中各部分的 Cu、Zn 相对含量. 菌丝和菌丝分泌物中 Cu、Zn 的计算相对含量表明, 菌丝分泌物中 Cu、Zn 的相对含量随营养液中 Cu、Zn 浓度增加的幅度比菌丝细胞中 Cu、Zn 浓度增加的幅度大(图 3). 尤其是在 Zn 处理中, 菌丝分泌物中 Zn 的相对含量是菌丝细胞中的 67 倍和 91 倍. 该结果显示了菌丝分泌物滞留重金属的巨大能力, 预示菌丝分泌物可能是菌根的重金属积累库.

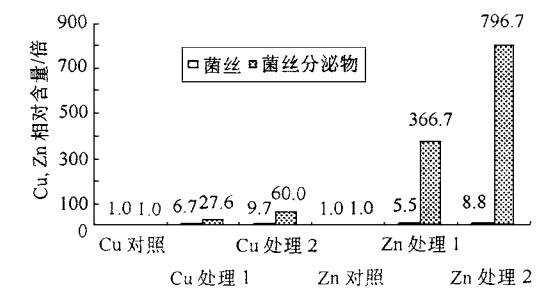


图3 菌丝离体培养系统中 Cu、Zn 含量

在早期一些研究植物对重金属忍耐能力的工作中发现, 长期生长在污染区对重金属污染有较强抗性的植物, 其根部重金属含量相对较高<sup>[18,19]</sup>. 本研究结果所显示的菌根植物中重金属的积累和分布特性, 与重金属污染抗性植物中的积累和分布特性一致, 说明菌根的确能增强寄主植物对环境过量重金属的抗性. 而且, 该研究所显示的菌根植物体内的重金属总量比无菌根植物高, 说明菌根并未改变寄主植物对重金属的吸收, 而是通过改变其在体内的分布达到减弱重金属对寄主植物的毒害.

在探讨植物的抗重金属机理时, 许多学者认为是植物将重金属结合在根细胞的细胞壁中, 阻止重金属传送到叶, 从而阻止了重金属对植物的光合作用等关键生理代谢过程的影响, 减弱了重金属对植物的毒性<sup>[18~20]</sup>. 因此, 在研

究菌根植物对重金属的抗性时, 有些学者认为是菌丝扩大了根的面积, 增加了固定在根部的重金属量从而增加了植物的抗性<sup>[6,7,10]</sup>. 也有学者推测菌根菌丝分泌物改变了环境中的重金属有效性从而降低它们的毒性<sup>[21]</sup>. 然而, 本研究测得的菌根菌丝分泌物中有大量重金属, 说明菌丝分泌物具有较大的固定重金属的能力. Mathys 发现在 Zn 有抗性的植物中, Zn 被苹果酸螯合<sup>[19]</sup>. 形成外生菌根菌套的菌丝间有大量空隙, 存在于此空间的大量菌丝分泌物可能是固定重金属的重要储藏库. 然而, 与植物共生的菌根菌生理代谢受其寄主植物的影响<sup>[1]</sup>, 菌丝分泌物的数量和成分会有所改变. 要探明菌丝分泌物对菌根植物重金属抗性的影响, 还要在外生菌根体系的分泌物方面做进一步的研究.

3 结论

生长在正常的营养浓度环境中, 菌根增加植物对 Cu、Zn 的吸收和积累. 而在过量 Cu、Zn 存在的情况下, 菌根同样增加植物对重金属元素的积累. 但增加量主要分布在植物的地下部分. 当外界 Cu、Zn 增加时, 菌丝分泌物中的 Cu、Zn 积累量增加, 且积累量高于菌丝细胞内的积累量.

参考文献

1 Harley J L and Smith S E. Mycorrhizal Symbiosis. London, New York: Academic Press, 1983. 2

2 Bowen G D, Skinner M F and Bevege D I. Zinc uptake by mycorrhizal and uninfected root of *Pinus radiata* and *Araucaria cunninghamii*. Soil Biol. Biochem., 1974, 6: 141 ~ 144.

3 Welling N P, Wearig A H and Thompson J P. Vesicular arbuscular mycorrhizae (VAM) improve phosphorus and zinc nutrition and growth of pigeonpea in a vertisol. Aust. J. Agric. Res., 1991, 42: 835~ 845.

4 Tinker P B and Gildon A. Mycorrhizal fungi and ion uptake. In Robb D A and Pierpoint W S. Metals and Micronutrients, Unptake and utilization by Plants.. London: Academic Press.. 1983. 21~ 32.

5 Denny H J and Wilkins D A. Zinc tolerance in *Betula* spp. I, II, III, and IV. New Phytol., 1987, 106: 517~ 553.

- 6 Bradley R, Burt A J and Read D J. Mycorrhizal infection and resistance to heavy metal toxicity in *Calluna vulgaris*. *Nature*, 1981, **292**: 335~ 337.
- 7 Bradley R, Burt A J and Read D J. The biology of mycorrhizal in the *Ricaceae* VIII, the role of mycorrhizal infection in heavy metal resistance. *New Phytol.*, 1982, **91**: 197~ 209.
- 8 Jones M D and Hutchinson T C. Nickel toxicity in mycorrhizal birch seedlings infected with *Lactarius rufus* or *Scleroderma flavidum*, II Uptake of nickel, calcium, magnesium, phosphorus and iron. *New Phytol.*, 1988, **108**: 461~ 470.
- 9 Dueck T H A, Visser P, Ernst W H O and Schat H. Vesicular-arbuscular mycorrhizae decrease zinc toxicity to grasses growing in zinc polluted soil. *Soil. biol. biochem.*, 1986, **18**: 331~ 333.
- 10 Colpaert J V and Van Assche J A. Zinc toxicity in ectomycorrhizal *Pinus sylvestris*. *Plant and Soil*, 1992, **143**: 201~ 211.
- 11 Kottke I, Guttenberger M, Hammpp R and Oberwinkler G. An in vitro method for establishing mycorrhizae on coniferous tree seedlings. *Trees*, 1987, **1**: 191~ 194.
- 12 Harley J L. The significance of mycorrhiza. *Mycology Research*, 1989, **92**: 129~ 139.
- 13 Li X-L, Marshner H and George E. Acquisition of phosphorus and copper by VA-mycorrhizal hyphae and root-to-shoot transport in white clover. *Plant and Soil*, 1991, **136**: 49~ 57.
- 14 Denny H J and Ridge I. Fungal slime and its role in the mycorrhizal amelioration of zinc toxicity to higher plants. *New Phytol.*, 1995, **130**: 252~ 257.
- 15 Dixon P K and Bushena C A. Respose of ectomycorrhizal *Pinus banksiana* and *Picea glauca* to heavy metals in soil. *Plant and Soil*, 1988, **105**: 265~ 271.
- 16 Kabata-Pendias A and Pendias H. *Trace Elements in Soils and Plants*. Boca Raton Florida: CRC Press, 1985
- 17 Van Assche F and Clijsters H. Inhibition of photosynthesis in *Phaseolus vulgaris* by treatment with toxic concentration of zinc: effects on electron transport and photophosphorylation. *Physiol. Plant*, 1986, **66**: 717~ 721.
- 18 Wu. L, Thuram n D A and Bradshaw A D. The uptake of copper and its effect upon respiratory processes of roots of copper tolerant and non-tolerant classes of *Agrostis stolonifera*. *New Phytol.*, 1975, **75**: 225~ 229.
- 19 Mathys W. Zinc tolerance by plant. In: Nriagu J O *Zinc in the Environment, Part II . Health effects*. London: Wiley, 1980. 415~ 437.
- 20 Brown M T and Wilkins D A. Zinc tolerance in *Betula*. *New Phytol.*, 1985, **99**: 91~ 100.
- 21 Denny H J and Ridge I. Fungal slime and its role in the mycorrhizal amelioration of zinc toxicity to higher plants. *New Phytol.*, 1995, **130**: 252~ 257.

## 作 者 须 知

为适应我国信息化建设需要,扩大作者学术交流渠道,本刊已加入《中国学术期刊(光盘版)》和《中国期刊网》,其作者文章著作权使用费包含在本刊所付稿酬内.如作者不同意将文章编入该数据库,请在来稿时声明,本刊将做适当处理.

《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社

E-mail 地址: CA J-CD@tsinghua.edu.cn

《环境科学》编辑部专用 E-mail 地址: HJKZ@chinajournal.net.cn

《中国期刊网》网址: WWW.chinajournal.net.cn