

铜镉胁迫对 2 种菌根真菌生长和细胞壁离子交换量的影响

黄志基, 黄艺*, 彭博

(北京大学环境学院, 北京 100871)

摘要: 在离体培养条件下, 研究了铜镉胁迫对 2 种外生菌根真菌美味牛肝菌(*Boletus edulis*) 和铆钉菇(*Gomphidius viscidus*) 生长状况, 培养环境 pH 值和细胞壁离子交换量的影响。结果表明, 以对照相比, 铜镉处理抑制了菌根真菌的生物量积累。通过半致死浓度评价 2 种菌根真菌耐受性发现, 铆钉菇的 Cu 耐受性强于美味牛肝菌, 而 Cd 耐受性弱于美味牛肝菌。菌根真菌培养后, 基质 pH 降低与真菌生物量有关。铜镉处理下菌根真菌单位生物量下降的 pH 单位大于对照, 说明菌根真菌在重金属胁迫下能通过调节自身 pH 环境缓解压力。铆钉菇的离子交换量在 780~1 800 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间, 并随重金属处理浓度的增加而增加; 美味牛肝菌的离子交换量在 500~750 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间, 并随重金属处理浓度的增加而减少。

关键词: 外生菌根真菌; 铜; 镉; pH; 离子交换量

中图分类号: X173 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)08-1654-05

Influence of Copper, Cadmium on Growth and Cation Exchange Capacity of Two Kinds of Ectomycorrhizal Funguses

HUANG Zhi-ji, HUANG Yi, PENG Bo

(College of Environmental Sciences, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract: Ectomycorrhizal fungus has the ability to enhance the growth of higher plants in the contaminated area, especially ruined by heavy metals. And much attention was focused on how the fungus could enhance the resistance of higher plants. We focused on the resistance of ectomycorrhizal fungus *in vitro* to heavy metals. In the first experiment, the mycelium biomasses of two ectomycorrhizal funguses growing in the Kottke media treated with different concentrations of Cu and Cd were measured after growth as well as the pH value of the medium. The results indicated that heavy metals could reduce the biomasses of the two funguses. *Gomphidius viscidus* has higher tolerance to Cu but less Cd than that of *Boletus edulis*. With development of fungal mycelia, the pH value of medium dropped significantly, and this effect might play an important role in enhancing its tolerance. In addition, the higher pH value change per biomass indicated that the fungus treated with heavy metals had the ability to adjust environment of pH more significantly. In the second experiment, the cation exchange capacity (CEC) of the cell walls of the fungus treated with heavy metals was measured according to Marschner's. The results indicated that with the increasing of the concentrations of Cu or Cd, the CEC of *Gomphidius viscidus* increased, but the CEC of *Boletus edulis* dropped.

Key words: ectomycorrhizal fungus; copper; cadmium; pH; cation exchange capacity

外生菌根(ectomycorrhizas)在增强宿主植物抗重金属毒害能力上起着重要的作用^[1~4]。目前, 外生菌根增强寄主植物抗重金属毒害能力的机理主要集中在积累机制和自我调节机制。积累机制认为菌根通过把重金属积累在外延菌丝, 菌套或哈蒂氏网上, 以阻止重金属进入植物体内^[5]; 或通过直接向根外分泌有机物质螯合重金属, 使其积累于根外表面^[6]。自我调节机制认为菌根可能通过调节自身的代谢作用来缓解重金属胁迫压力, 如增加有机酸的分泌, 增加脱氢酶, 糖酵解酶活性等; 甚至通过调节基因的表达来达到缓解毒害的目的^[6~9]。虽然以往的研究提出很多可能的机理, 但其抗性机理仍然没有完全清楚^[1]。

菌根真菌细胞壁和膜成分是菌根真菌细胞与外

界的接触表面, 对重金属的吸附和积累作用, 直接影响真菌抗重金属能力。因此, 有很多学者在这方面进行了研究。Blaudez 等^[10]认为菌根真菌细胞壁积累了 50% 的重金属 Cd。这些 Cd 被结合在菌根真菌细胞壁的负电荷电位^[11]。Marschner 等^[12]认为菌根真菌细胞壁的亲水性能力的大小对细胞壁与重金属的结合能力的强弱有很大的关联。但这些研究多在环境重金属浓度正常的情况下进行, 在重金属胁迫下生长的菌根真菌细胞壁吸收能力的研究还较少

收稿日期: 2005-09-15; 修订日期: 2005-12-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(20477001); 广东省自然科学基金项目(035018)

作者简介: 黄志基(1981~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物学和环境生态学, E-mail: huangzj@pku.edu.cn

* 通讯联系人, E-mail: yhuang@pku.edu.cn

见到。

本试验以 2 种外生菌根真菌 *Boletus edulis* 和 *Gomphidius viscidus* 为研究对象,通过离体培养的方法,分析了不同铜、镉浓度下,2 种菌根真菌的耐受性,以及培养前后菌根真菌培养环境的变化;研究在重金属污染情况下生长的菌根真菌细胞壁的离子交换量(cation exchange capacity, CEC)的变化,探讨细胞壁在抗重金属中的可能作用,为进一步探讨外生菌根及外生菌根真菌抗重金属胁迫机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌种

本实验采用 2 种菌根真菌美味牛肝菌(*Boletus edulis*)和铆钉菇(*Gomphidius viscidus*),均来自北京西山无污染的针阔混交林,由北京林业大学森林病理研究室采集鉴定。

1.2 母菌培养

在外生菌根真菌 *B. edulis* 和 *G. viscidus* 母菌中,用打孔器打出 0.8 cm 的菌块,置于改良的 Kottke 固体培养基^[13]中,静置 25℃培养 7~10 d 待用。

1.3 菌根真菌对 Cu、Cd 的耐受性

试验所用 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 分别由分析纯的试剂 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{CdCl}_2 \cdot 5/2 \text{H}_2\text{O}$ 配置,分别设 4 个浓度水平(Cu^{2+} :对照 5、10、20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 Cd^{2+} :对照 5、10、20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。配置含有上述重金属浓度的改良 Kottke 培养液后,用 1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 和 1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液将初始 pH 值调至 5.0。分别加 25 mL 于 150 mL 的三角瓶中。封口膜封好,高压灭菌锅灭菌。冷却待用。

用打孔器在生长旺盛的 *B. edulis*, *G. viscidus* 母菌边缘,打出直径为 0.8 cm 的圆形菌块。每个三角瓶中接种 2 块菌块,用封口膜封好,放入恒温箱(25℃)中培养 10 d。每天分别均匀晃动 2 次。每个处理 4 个重复。接种操作在无菌超净室中进行。

1.4 细胞壁在菌根真菌抗重金属毒害中的作用

用打孔器在培养皿边缘菌根真菌生长旺盛处,打出直径为 0.8 cm 的真菌菌落,接种于 25 mL 的 Kottke 营养液中。前 3 d 为正常培养,使真菌适应从固体到液体培养基环境的转变^[9]。3 d 后转移到含有重金属处理的营养液中继续培养。重金属的处理浓度参照 1.3 节。每个处理 4 个重复。

1.5 测定方法

菌根真菌生物量的测定:培养 10 d 后,用真空水泵抽滤培养液,过 50 μm 滤膜。把菌丝放在烘干恒重并称重的滤纸上,在 80℃干燥 12 h,置于干燥皿中,冷却恒重后测定干重。

培养液 pH 值的测定:过滤后的培养液用 pH 计测定其 pH 值。

菌根真菌细胞壁离子交换量(CEC)的测定:取生长基本一致的 3 个重复,用真空水泵抽滤培养液,过 50 μm 滤膜,再用双蒸水冲洗菌丝 3 遍。分离的菌丝依次经过 20 mL 的下列溶液,5 min,4℃:①HCl (0.05 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、② $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (0.04 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、③HCl (0.05 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、④ PbCl_2 (0.01 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (0.01 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (0.01 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、 KNO_3 (0.01 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、⑤HCl (0.05 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。把菌丝放在烘干恒重并称重的滤纸上,在 80℃干燥 12 h,测定干重。用原子吸收分光光度法测定在溶液⑤中 4 种重金属(Pb^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^+)的浓度,其加和量即为细胞壁离子交换量 CEC^[11]。

1.6 数据处理

使用 Originpro 7.5 和 Excel 2000 对数据进行 ANOVA 分析和 *t* 比较。

2 结果与分析

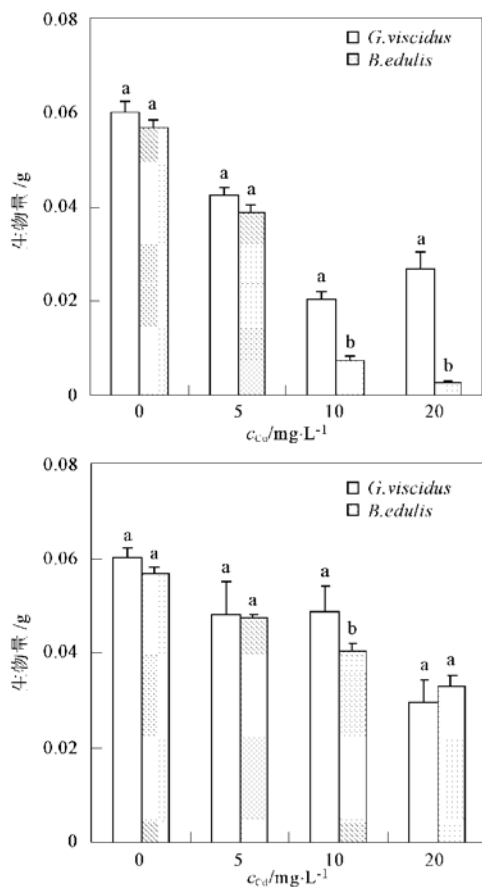
2.1 2 种菌根真菌对 Cu、Cd 的耐受性

2.1.1 重金属对菌根真菌生长的影响

随着重金属处理浓度的增加,2 种菌根真菌的生物量干重总体上表现为下降的趋势。从生物量下降的趋势来看,Cu 处理要比 Cd 处理明显(图 1)。20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cu 处理下,*B. edulis* 生物量为对照的 4.6%;而 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 处理下,*B. edulis* 生物量为对照的 58.6%。在对照和 5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Cu 处理水平下,*G. viscidus* 和 *B. edulis* 之间生物量无显著差异;在高浓度 Cu 处理下,*G. viscidus* 的生物量显著高于 *B. edulis*。在同一 Cd 处理浓度下,除了 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理下 *G. viscidus* 的生物量高于 *B. edulis* 之外,其余各处理 2 种菌根真菌的生物量无明显差异。

值得注意的是,培养前后菌根真菌菌块的颜色以及培养基质的性质发生了变化。在 Cu 胁迫下,*B. edulis* 菌块颜色变深,由白色转变为深褐色,并随处理浓度的增加,变色程度有加深的趋势。相比之下,*B. edulis* 在低 Cd 胁迫下颜色变为浅黄色,随着处理浓度的增加,逐渐变化为黄色。培养基质出现胶体

的性质.这说明2种重金属对 *B. edulis* 菌种产生了胁迫作用. *B. edulis* 在2种重金属胁迫下不同的表现,可能预着重金属对 *B. edulis* 不同的毒害机理以及菌根真菌 *B. edulis* 对重金属不同的耐受机理. *G. viscidus* 在2种重金属处理下颜色均未发生明显变化.这种颜色的改变是由于重金属离子在真菌细胞中的本来颜色,还是菌根真菌自我调节作用所分泌的色素等分泌物所造成,需要在以后的试验中继续作深入的观察和测试.



不同字母表示同一重金属处理下不同菌根真菌的生物量差异达到5%显著水平,用LSD法检验

图1 不同Cu, Cd浓度处理下2种菌根真菌的生物量

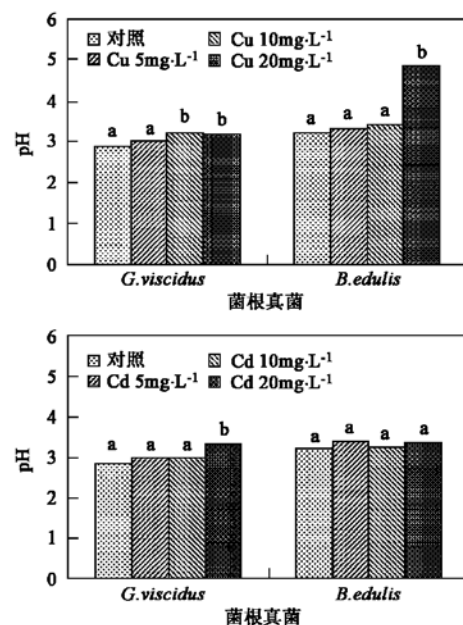
Fig. 1 Biomasses of *G. viscidus* and *B. edulis* grown in different solution supplied with different concentrations of Cu and Cd

2.1.2 培养基 pH 的变化

菌根真菌培养前后,菌根真菌培养液 pH 表现出明显的下降趋势.除了 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cu}$ 处理 *B. edulis* 培养液没有发生显著变化外,其余各处理的 pH 都下降到 2.5~3.5 之间,显著低于培养前的营养液 pH (5.0).重金属 Cu 和 Cd 处理后,2 种菌根真菌培养液的 pH 变化大致相同,总体趋势均表现为

高处理浓度变化小于低处理浓度.加 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cu}$ 处理后, *G. viscidus* 培养液的 pH 显著高于对照和 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;而 *B. edulis* 培养液 pH 除了在 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cu}$ 处理与处理前未发生明显减少外,其余处理之间无显著性差异. Cd 处理与 Cu 处理不同,除了 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cd}$ 处理 *G. viscidus* 培养液 pH 有明显不同外,其余处理之间 *G. viscidus* 培养液 pH 变化无显著性差异;而 *B. edulis* 培养液 pH 在各处理下均无显著性差异.这与李芳等^[14]的研究结果相似.

重金属处理下,单位菌丝生物量引起的 pH 变化显著大于对照.如 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{Cu}$ 处理下, *G. viscidus* 培养液下降 67.95 个 pH 单位每 g 生物量,而对照为 35.66 个 pH 单位每 g 生物量; *B. edulis* 培养液下降 59.79 个 pH 单位每 g 生物量,而对照为 31.72 个 pH 单位每 g 生物量. Cd 处理有类似的结果(见图 2).



不同字母表示同一菌根真菌在不同重金属浓度下 pH 差异达到5%显著性水平,用LSD法检验

图2 重金属胁迫下,2种菌根真菌培养液的 pH 值

Fig. 2 pH values of the substrates after two ectomycorrhizal fungi grown in liquid media with different concentrations of Cu and Cd

2.2 菌根真菌细胞壁离子交换量(CEC)

不论是在对照或重金属处理下, *G. viscidus* 菌种的离子交换量均显著大于 *B. edulis* 菌种的离子交换量.其中 *G. viscidus* 的离子交换量在 $780 \sim 1800 \mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间,而 *B. edulis* 的离子交换量在

500~750 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间. 与对照菌种相比, Cu 处理和 Cd 处理促进了 *G. viscidus* 离子交换量的增加. 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理, 离子交换量分别比对照增加了 47.83% 和 32.97%, 达到了显著水平. 随着 Cd 处理浓度的增加, *G. viscidus* 的离子交换量也出现上升的趋势. 与对照相比, 5, 10, 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 处理下, *G. viscidus* 离子交换量分别增加了 28.75%, 64.50% 和 110.13%. 而且, Cd 处理下, *G. viscidus* 离子交换量的增加要比 Cu 处理显著.

然而, 重金属处理使 *B. edulis* 菌种的离子交换量出现了下降的趋势. 5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu 处理, 其离子交换量减少为对照的 82.45%, 而 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理, 其离子交换量减少为对照的 76.60% 和 76.53%, 两处理之间差异不显著. Cd 处理也出现类似的趋势(图 3).

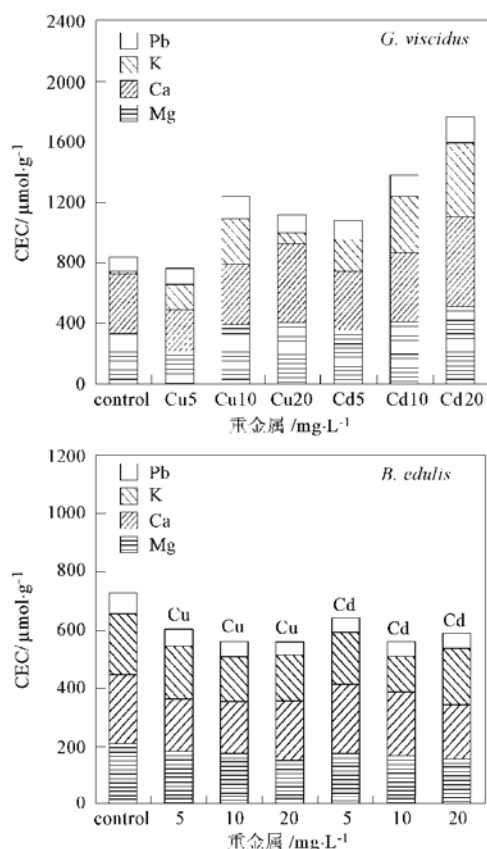


图3 重金属处理下, 2种菌根真菌的离子交换量(CEC)

Fig. 3 CEC of the cell wall after two ectomycorrhizal fungus grown in liquid media with different concentrations of Cu and Cd

3 讨论

3.1 菌根真菌对重金属胁迫的耐受性

通过对菌根真菌生物量进行回归分析得出, 在

试验条件下 *G. viscidus* 的铜半致死浓度约为 9 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, *B. edulis* 的铜半致死浓度约为 6 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; *G. viscidus* 的镉半致死浓度约为 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, *B. edulis* 的镉半致死浓度达到 22 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. 结果说明, 2种菌根真菌对重金属 Cu, Cd 有较好的耐受性. 重金属的毒害作用能在一定程度上抑制菌根真菌的生长. 本试验结果显示, 菌根真菌的生物量随着重金属处理浓度的增加总体上呈减少的趋势, 这与 Blaudez 等^[15]的研究结果相一致. 试验还发现, 随重金属处理浓度的增加, 2种菌根真菌生物量的下降程度在 Cu 处理要比 Cd 处理迅速(图 1), 说明 Cu 的毒性要比 Cd 大. Courbot 等^[16]研究认为 Cd 可能被菌根真菌细胞溶质中的金属硫因, 谷胱甘肽等整合剂所整合. 同时, Cd 是生物生长的非必需元素, 菌根真菌可能通过某种机制把 Cd 排斥于体外, 从而缓解 Cd 毒害^[17]. 然而, 李芳等^[14]报道了不同的试验结果.

真菌培养基 pH 下降与基质 N 源有重要关系. 本研究中, 真菌吸收基质组分 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 可能导致 pH 下降. 本试验结果说明, 重金属处理下单位生物量引起的 pH 变化大于对照. 因此, 在重金属胁迫下菌根真菌通过分泌更多有机酸(如草酸), 氨基酸等物质, 整合或固定重金属, 从而减少重金属的生物有效性, 缓解毒害^[18]. 从图 2 可以看出, pH 降低还与重金属浓度有关. 在高浓度下, 真菌生物量较少, 基质 pH 降低较少. 这可能是真菌吸收离子较少^[19]或代谢分泌作用减弱所致. 因此, 有关菌根真菌分泌作用需要在以后的试验中作深入的研究.

3.2 菌根真菌细胞壁的离子交换量与重金属胁迫

离子交换量是生物细胞壁吸附作用的一个很重要的指标, 它的测定过程一般是通过细胞壁对阳离子 Mg, K, Pb, Ca 的吸附量来估算的^[12]. 离子交换量反映了细胞壁上负电位的多少, 以及生物体单位重量的表面积的大小, 是生物对重金属吸附能力的重要参考指标. 一般情况下, 植物根的离子交换量介于 100~700 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间; 有些植物的离子交换量更低, 如挪威云杉, 只有 60~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ ^[20]. 在本试验中, *B. edulis* 的离子交换量在 500~750 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间, 相比植物的离子交换量并没有明显的增加, 而 *G. viscidus* 的离子交换量在 780~1800 $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间, 显著大于植物的离子交换量. 这可能是菌根真菌单位重量的菌丝有更大的表面积, 具有更强的吸附能力; 也可能是菌丝表面负电位增加所导致的结果. 这一结果和 Marschner 的研究结果

相一致^[12]. 实验所显示的真菌菌丝相对较高的离子交换量, 预示着菌根表面比非菌根植物根系表面更有效地吸收营养元素, 对重金属有也更强的吸附力和固定作用.

随着重金属浓度的增加, 2 种菌根真菌离子交换量表现刚好相反. *G. viscidus* 菌种的离子交换量增加, *B. edulis* 菌种的离子交换量降低. 这可能是由菌种菌丝的特性决定的. *G. viscidus* 菌种的菌丝含水量较小, 菌丝表面分泌物较少, 而表面积较大, 这就使得菌丝表面积与生物量的比值较大. 随着重金属浓度的增加, 真菌的生物量下降, 但菌丝的表面面积仍然比较大, 这就导致菌丝离子交换量的增加. 而 *B. edulis* 菌种正好相反, 菌丝表面分泌物较多, 菌丝表面积与生物量的比值较小. 在生物量下降的情况下, 出现了离子交换量下降的趋势. 这可能与 2 菌种的吸附位点的不同有关.

本实验 CEC 测定方法是运用真菌对阳离子 Mg^{2+} , K^{+} , Pb^{2+} , Ca^{2+} 的吸附量来间接估算的. 而菌根真菌在 Cu, Cd 胁迫下分别对 Cu 和 Cd 的吸附能力需要在此基础上做进一步研究.

3.3 菌根真菌抗性的差异性

菌根真菌抗性存在很大的差异, 不同菌根真菌对重金属有不同的耐性, 同一菌根真菌对不同重金属也表现出不同的抗性机理. Blaudez 等^[15] 认为菌根真菌的这种差异, 可能与菌根真菌来源地有关. 本试验中, *B. edulis* 和 *G. viscidus* 2 种菌根真菌, 来源于同一无污染处. 从本实验结果认为, 菌种间对重金属胁迫表现的不同抗性, 更多的受菌种本身的生理代谢特性影响.

4 结论

美味牛肝菌和铆钉菇具有较好的重金属 Cu, Cd 耐受性. 重金属处理下, 单位菌丝量引起的 pH 变化大于对照可能是菌根真菌抗性的一种表现. 2 种菌根真菌细胞壁的离子交换量 (CEC) 均较大; 在重金属胁迫下, 铆钉菇细胞壁 CEC 增加, 美味牛肝菌 CEC 减少.

参考文献:

- [1] Jentschke G, Godbold D L. Metal toxicity and ectomycorrhizas [J]. *Physiol. Plantarum*, 2000, **109**: 107~ 116.
- [2] Krupa P, Piotrowska-Seget Z. Positive aspects of interaction between plants and mycorrhizal fungi originating from soils polluted with cadmium [J]. *Polish J. of Environ. Studies*, 2003, **12**(6): 723~ 726.
- [3] 黄艺, 陶澍, 陈有鉴, 等. 外生菌根对欧洲赤松苗 (*Pinus sylvestris*) Cu, Zn 积累和分配的影响 [J]. *环境科学*, 2000, **21**(2): 1~ 6.
- [4] Tichelen K K V, Colpaert J V, Vangronsveld J. Ectomycorrhizal protection of *Pinus sylvestris* against copper toxicity [J]. *New Phytol.*, 2001, **150**: 203~ 213.
- [5] Brunner I, Frey B. Detection and localization of aluminum and heavy metals in ectomycorrhizal Norway spruce seedlings [J]. *Environ. Pollution*, 2000, **108**: 121~ 128.
- [6] Denny H, Ridge I. Fungal slime and its role in the mycorrhizal amelioration of zinc toxicity to higher plants [J]. *New Phytol.*, 1995, **130**: 251~ 257.
- [7] Ajungla T, Sharma G D, Dkhar M S. Heavy metal toxicity on dehydrogenase activity on rhizospheric soil of ectomycorrhizal pine seedlings in field condition [J]. *J. Environ. Biol.*, 2003, **24**(4): 461~ 463.
- [8] 黄艺, 陶澍. 过量铜, 锌对外生菌根菌牛肝菌生物量, 呼吸和糖酵解酶活性的影响 [J]. *植物生理学报*, 2001, **27**(4): 303~ 308.
- [9] Jacob C, Courbot M, Martin F, et al. Transcriptomic responses to cadmium in the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* [J]. *FEBS Letters*, 2004, **576**: 423~ 427.
- [10] Blaudez D, Botton B, Chalot M. Cadmium uptake and subcellular compartmentation in the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* [J]. *Microbiology-UK*, 2000, **146**: 1109~ 1117.
- [11] Galli U, Schuepp H, Brunold C. Heavy metal binding by mycorrhizal fungi [J]. *Physiol. Plant*, 1994, **92**: 364~ 368.
- [12] Marschner P, Jentschke G, Godbold D L. Cation exchange capacity and lead sorption in ectomycorrhizal fungi [J]. *Plant Soil*, 1998, **205**: 93~ 98.
- [13] Kottke I, Guttenger M, Hammpp R, et al. An in vitro method for establishing mycorrhizae on coniferous tree seedlings [J]. *Trees*, 1987, **1**: 191~ 194.
- [14] 李芳, 张俊伶, 冯固, 等. 两种外生菌根真菌对重金属 Zn, Cd 和 Pb 耐性的研究 [J]. *环境科学学报*, 2003, **23**(6): 807~ 812.
- [15] Blaudez D, Jacob C, Turnau K, et al. Different responses of ectomycorrhizal fungi to heavy metals in vitro [J]. *Mycological Research*, 2000, **104**: 1366~ 1371.
- [16] Courbot M, Diez L, Ruotolo R, et al. Cadmium responsive thiols in the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* [J]. *Applied & Environ. Microbio.*, 2004, **70**(12): 7413~ 7417.
- [17] Turnau K, Kottke I, Dexheimer J, et al. Element distribution in mycelium of *Pisolithus arhizus* treated with cadmium dust [J]. *Annals of Botany*, 1994, **74**: 137~ 142.
- [18] Ahoner Jonnarth U, Patrick A W Van Hee, Lundstrom U S, et al. Production of organic acid by mycorrhizal and non-mycorrhizal *Pinus sylvestris* seedlings exposed to elevated concentrations of aluminum and heavy metal [J]. *New Phytol.*, 2000, **146**: 557~ 567.
- [19] Hung L, Trappe J M. Growth variation between and within species of ectomycorrhizal fungi in response to pH *in vitro* [J]. *Mycologia*, 1983, **75**(2): 234~ 241.
- [20] Godbold D L, Jentschke G. Aluminum accumulation in root cell walls coincides with inhibition of root growth but not with inhibition of Mg uptake in Norway spruce [J]. *Physiol. Plant*, 1998, **102**: 553~ 560.