

刘雪琴,韩 锰,全瑞建. 纳米 ZnO 胁迫下丛枝菌根真菌根外菌丝对玉米生长及锌吸收的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(2):46-49.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.02.012

纳米 ZnO 胁迫下丛枝菌根真菌根外菌丝对玉米生长及锌吸收的影响

刘雪琴,韩 锰,全瑞建
(洛阳师范学院生命科学学院,河南洛阳 471934)

摘要:以纳米 ZnO 和丛枝菌根(arbuscular mycorrhizae,简称 AM)真菌地表皮囊霉(*Glomus versiform*)为研究对象,采用上下隔网分室法研究纳米 ZnO 胁迫下 AM 真菌根外菌丝对玉米生长及对锌吸收量的影响。试验共设置 6 个处理,所有处理的上层根室均不施用纳米 ZnO,1 个不接种菌剂的对照处理,另外 5 个处理均接种菌剂,下层菌丝室土壤分别施用 0、400、800、1 600、2 400 mg/kg 纳米 ZnO。结果表明,纳米 ZnO 胁迫下接种 AM 真菌可明显促进玉米的生长,AM 真菌根外菌丝可以吸收菌丝室中的锌,并从自身转运到宿主植物根系内,并进一步向地上部转运;AM 真菌根外菌丝吸收的锌可促进玉米植株对锌的吸收和转运;AM 真菌根外菌丝对锌的吸收可能是主动调节吸收。

关键词:纳米 ZnO;丛枝菌根真菌;地表皮囊霉;根外菌丝;玉米;锌吸收;隔网分室法
中图分类号: S182;S513.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)02-0046-03

丛枝菌根(arbuscular mycorrhizae,简称 AM)真菌不仅可以改变根系形态和根际理化状况来保护植物少受重金属毒害,还能通过自身的螯合作用和过滤作用把重金属固定在孢子和菌丝中^[1],尤其是根外菌丝^[2]。AM 真菌根外菌丝具有较高的金属吸附能力,已有研究证实 AM 真菌孢子和菌丝有吸附固定金属的能力^[3]。另有大量研究表明,AM 真菌菌丝能将自身吸收固定的重金属转移到植物体内^[4-7]。

隔网分室系统能有效地研究 AM 真菌和宿主植物对重金属的不同效应。已有很多研究利用同位素标记法证实了根外菌丝对重金属的吸收转运作用,如⁶⁵Zn^[8]、¹⁰⁹Cd^[9]、²³³U^[5]、¹³⁷Cs^[6]等。笔者所在课题组前期已经研究了纳米 ZnO 对 AM 真菌及其宿主的影响^[10-11],在此基础上,本试验将继续研究 AM 真菌的根外菌丝对纳米 ZnO 的响应及对宿主玉米生长的影响,以期探索纳米 ZnO 对土壤中 AM 真菌和植物生长的影响,及 AM 真菌对纳米材料的响应。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试玉米品种:郑单 958,由河南省洛阳市农业科学院提供。供试纳米材料:纳米 ZnO,购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司,粒径大小为(90±10)nm。

供试土壤:农田土,土壤过 2 mm 筛,121℃高压蒸汽灭菌 2 h,风干后备用。农田土的基本理化性质如表 1 所示。

供试菌剂:菌剂为 AM 真菌地表皮囊霉(*Glomus*

versiform),宿主植物为白花三叶草(*Trifolium repens* L.),基质为河沙和灭菌土(体积比为 1:1),去掉白花三叶草地上部分,把根剪碎,以含有真菌孢子、菌丝、侵染根段等繁殖体和根际土壤的菌剂为接种物;以灭菌的接种物作为对照菌剂,除不含 AM 真菌外,其他均与 AM 真菌菌剂处理组相同。

表 1 供试土壤的基本理化性质

项目	值
pH 值	8.2
土壤水质量比	1.0:2.5
有机质含量(%)	2.08
全氮含量(g/kg)	1.03
碱解氮含量(mg/kg)	65.20
全磷含量(g/kg)	1.82
速效磷含量(mg/kg)	9.02
全钾含量(g/kg)	19.20
速效钾含量(mg/kg)	278.64
总锌含量(mg/kg)	48.46
二乙基三胺五乙酸(DTPA)可提取锌的量(mg/kg)	0.47

1.2 试验方法

试验于 2016 年 3—7 月在洛阳师范学院温室大棚内进行。上面、下面的盆分别为 2.0、1.5 L 的塑料盆,分别装 2.0、1.5 kg 供试土壤,中间用孔径为 38 μm 的尼龙网隔开。AM 真菌菌丝可以通过尼龙网,根系不能通过尼龙网,因此,下层为菌丝室,上层为根室。根室土壤不施用纳米 ZnO,菌丝室土壤分别施用 0、400、800、1 600、2 400 mg/kg 纳米 ZnO,另外设置 1 个不接菌不施用纳米 ZnO 的对照处理(NM0),共 6 个处理,每个处理设 4 次重复,共计 24 盆。将 100 g 菌剂均匀混施于根室土壤中,菌剂与土壤混匀,不接菌处理加入等量的灭菌菌剂,并浇灌 10 mL 过 500 目筛的菌剂滤液,使其他微生物群落尽量保持一致。为保证有充足的养分供应,装盆前将 NH₄NO₃、KH₂PO₄、K₂SO₄ 按 300 mg/kg 氮、150 mg/kg 磷、20 mg/kg 钾的用量均匀混入土壤中。每盆播种 5 粒玉米种

收稿日期:2017-06-26
基金项目:河南省高等学校重点科研项目(编号:2017B210008);河南省科技攻关计划(编号:152102310347、172102110106);洛阳师范学院应用基金项目(编号:4320012)。
作者简介:刘雪琴(1981—),女,山东菏泽人,博士,讲师,主要从事植物营养与环境修复等研究。E-mail:liuxueqin810310@163.com。

子,出苗后每盆留 3 棵苗。在植物生长过程中控制土壤含水量在 20% 左右,避免土壤溶液从花盆底部渗出或浇水过多引起菌丝室中的纳米 ZnO 污染根室中的土壤。所有盆钵随机排列于日光温室中。自出苗日起 10 周后收获。

1.3 测定项目与方法

玉米收获前测量植株株高,植株地上部分和地下部分分开收获,用自来水冲洗干净后,再次用去离子水进行冲洗,用吸水纸擦干,留取部分细根测定菌根侵染率,其余的样品置于 105 ℃ 烘箱中杀青 30 min,然后 70 ℃ 烘干称质量。菌根侵染率利用曲利苯蓝-方格交叉法测定。植株地上部分和根系的烘干样品粉碎后,用高氯酸和浓硝酸(体积比为 1:5)消煮,原子吸收分光光度法测定植株体内锌的含量,具体测定方法参照《土壤农化分析》^[12]。

1.4 数据计算与统计

用 Excel、SPSS 10.0 软件处理和分析试验数据,用 Duncan's 新复极差法比较各处理之间的差异性($P < 0.05$)。

参考 Harper 等的定义^[13],根据下列公式计算植物对锌的吸收效率和转运效率:

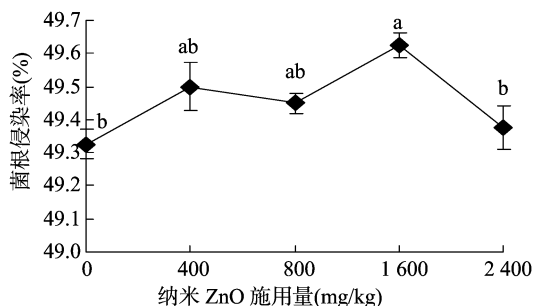
植物对锌的吸收效率(mg/g) = 全株植株对锌的吸收总量/根系干质量。

植物对锌的转运效率(mg/g) = 植株地上部分对锌的吸收量/根系干质量。

2 结果与分析

2.1 菌根侵染率

不接菌的对照处理中,玉米根系没有菌根侵染。由图 1 可知,在各个纳米 ZnO 施用水平下玉米根系的菌根侵染率均高于 49%,达到了较高的水平。与不施用纳米 ZnO 的处理相比,施用纳米 ZnO 处理的玉米根系菌根侵染率均升高,且随着纳米 ZnO 施用量的增加菌根侵染率呈现先升高后降低的趋势,纳米 ZnO 的施用量在 1 600 mg/kg 时菌根侵染率最高,在 2 400 mg/kg 时较低,其他水平下没有明显差异。



图中不同小写字母表示各处理之间在 0.05 水平上差异显著。图3、图4同

图1 纳米 ZnO 施用量对玉米根系菌根侵染率的影响

2.2 玉米株高和生物量

由表 2 可知,与不接菌的对照(NM 0)相比,在不同的纳米 ZnO 施用水平下,接种 AM 真菌处理的玉米植株的地上部干质量、株高均升高。与不施用纳米 ZnO 的接菌对照相比,施用纳米 ZnO 处理的玉米植株的地上部干质量、根系干质量和株高均降低。因此,当菌丝室的纳米 ZnO 施用量在 0 ~ 2 400 mg/kg 范围时,接种 AM 真菌均可有效促进玉米生长。

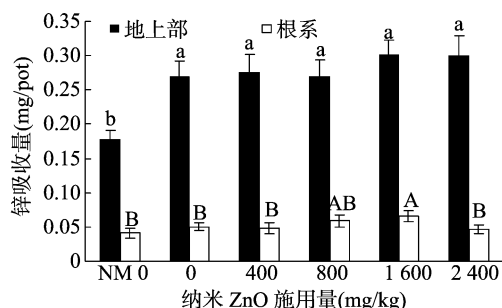
表 2 各处理组玉米的株高、干质量

处理	纳米 ZnO 施用量 (mg/kg)	地上部干质量 (g)	根系干质量 (g)	株高 (cm)
NM 0	0	2.53 ± 0.27d	0.66 ± 0.14abc	73.92 ± 7.50c
纳米 ZnO	0	5.29 ± 0.33a	0.76 ± 0.11a	86.25 ± 2.60a
	400	4.53 ± 0.23b	0.72 ± 0.03ab	83.83 ± 2.38ab
	800	3.767 ± 0.26c	0.58 ± 0.06c	80.42 ± 0.69b
	1 600	3.60 ± 0.24c	0.61 ± 0.05bc	78.67 ± 1.63bc
	2 400	3.75 ± 0.16c	0.53 ± 0.03c	79.83 ± 0.79b

注:“地上部干质量”“根系干质量”均为 1 盆(3 株)植株的测量数据。同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。

2.3 玉米植株体内的锌吸收量

由图 2 可知,与不接种 AM 真菌的对照(NM 0)相比,接菌玉米植株地上部对锌的吸收量显著增加,但纳米 ZnO 的施用水平对玉米植株地上部对锌的吸收量影响不显著;接菌玉米植株根系对锌的吸收量增加不显著,纳米 ZnO 的施用量为 1 600 mg/kg 时,玉米根系对锌的吸收量明显高于其他施用纳米 ZnO 的处理。



图中不同小写、大写字母分别表示各处理之间的地上部、根系对锌的吸收量在 0.05 水平上差异显著

图2 不同处理下玉米对锌的吸收量

2.4 玉米对锌的吸收效率和转运效率

由图 3、图 4 可知,与不接种 AM 真菌的处理相比,接菌处理的玉米植株对锌的吸收效率和转运效率显著提高,这表明接种 AM 真菌可促进玉米植株对土壤中锌的吸收和转运。在所有的接菌处理中,不施用纳米 ZnO 处理的锌吸收效率和转运效率最低,当纳米 ZnO 的施用量 ≥ 800 mg/kg 时,接菌处理的玉米植株对锌的吸收效率和转运效率与不施用纳米 ZnO 处理相比显著增加,且随着纳米 ZnO 施用量的增加,玉米植株对锌的吸收效率和转运效率呈现升高趋势。这是因为根外菌丝从高浓度的纳米 ZnO 处理中吸收的锌较多,从而进一步促进了植株对锌的吸收和转运。

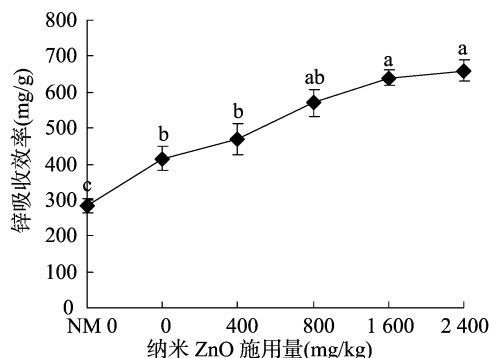


图3 不同处理下玉米植株对锌的吸收效率

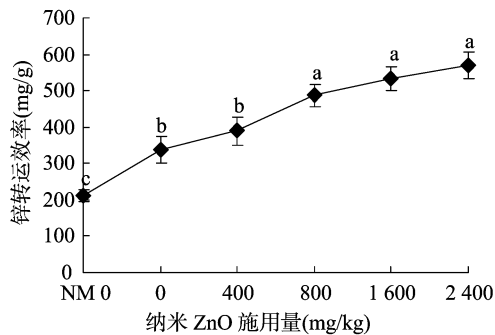


图4 不同处理下玉米植株对锌的转运效率

2.5 根外菌丝对锌吸收的贡献率

接菌植株与不接菌植株的锌吸收量差值可认为是由菌丝吸收的,由此可以计算出菌丝吸收锌对接菌植株吸收锌的贡献率。由表 3 可知,不同纳米 ZnO 施用水平下的菌丝贡献率存在差异,但与纳米 ZnO 的施用水平没有显著的相关性。纳米 ZnO 施用量为 1 600 mg/kg 时,菌丝对植物吸收锌的贡献率最高,为 28.05%。

表 3 不同处理下根外菌丝对 Zn 吸收量的贡献率

纳米 ZnO 施用量 (mg/kg)	菌丝贡献率 (%)
0	25.83
400	24.21
800	22.33
1 600	28.05
2 400	22.72

3 讨论与结论

本试验采取上下隔网分室装置来研究 AM 真菌根外菌丝吸收转运效应,一方面可以减少左右分室装置中菌丝室中的重金属向根室中迁移,另一方面在试验过程中通过控制浇水量,可以减小菌丝室中的元素迁移到根室中的可能性,因此造成的试验误差较小,对根外菌丝对纳米 ZnO 的响应及对玉米生长影响的贡献的统计是有效的。

本试验结果表明,接种 AM 真菌显著增加了玉米对 Zn 的吸收量,促进了玉米的生长发育;但接菌条件下在菌丝室中施用不同水平的纳米 ZnO,对玉米生长及根室中的 AM 真菌产生的影响差别不大。结果表明,接种 AM 真菌增加了玉米植株地上部和根系对锌的吸收量。在本试验中,根室中没有施用纳米 ZnO,纳米 ZnO 被施用在菌丝室,菌丝室和根室之间用孔径为 38 μm 的尼龙网隔开,AM 真菌菌丝可以通过尼龙网,根系不能通过尼龙网。因此,纳米 ZnO 只与 AM 真菌根外菌丝有联系,这说明根外菌丝吸收了一部分菌丝室内的锌,菌丝吸收的锌不仅仅固定在菌丝自身内部,也将一部分吸收的锌转移到了植株根系内,并有一部分运输到地上部,这与前人的研究结果^[6-7]部分相一致。Declerck 等研究发现,*G. lamellosum* 的根外菌丝可吸收、积累并转运放射性金属元素¹³⁷Cs 到植物根中^[6]。Joner 等研究发现,*G. mosseae* 的根外菌丝可以将¹⁰⁹Cd 从沙质壤土运输到三叶草并把吸收的大部分¹⁰⁹Cd 固定在根部^[9]。还有一些研究证实了菌根菌丝对重金属的吸收转运作用,Hutchinson 等发现,有的菌根植物中

10% 的¹⁰⁹Cd 是通过菌丝吸收的^[7]。Rufyikiri 等发现,*G. intraradices* 的菌丝可以将菌丝室中的²³³U 转运到植物根中^[4]。上述研究中的重金属(Cd、Cs 等)都不是植物生长所必需的元素,与必需元素锌相比,AM 真菌根外菌丝对它们的吸收和运输机制可能不一样,而本研究采用的又是纳米金属氧化物(ZnO),迄今还没有关于纳米材料和 AM 真菌根外菌丝之间的相关细致研究,因此须要进一步深入研究。

与不接菌的对照(NM 0)相比,接菌处理的根系对锌的吸收量在纳米 ZnO 施用量为 1 600 mg/kg 时明显增加,其他水平下略高但差异不明显,接菌处理的地上部对锌的吸收量均显著增加,这一方面表明根外菌丝从菌丝室吸收了一部分锌并转运到植物根系,另一方面表明根室内的菌根促进了植株对土壤中锌的吸收及向地上部的转运。接菌条件下,玉米对锌的吸收效率和转运效率随着纳米 ZnO 施用量的增加而提高,这进一步表明菌丝吸收的锌转移到植物根系内,并可转运到植物地上部分,还表明根外菌丝吸收的锌可促进宿主体内锌的吸收和转运。而对于根外菌丝对锌的吸收量和转运量本试验没有进行细致研究,有待于进一步深入研究。

笔者及笔者所在课题组前期研究表明,随纳米 ZnO 施用量的增加,玉米根系和地上部对锌的吸收量呈现一直显著增加的趋势^[10,14]。而本试验中,接菌条件下,随着纳米 ZnO 施用量的增加,玉米根系对锌的吸收量呈现先增加后降低的趋势,在纳米 ZnO 施用量为 1 600 mg/kg 时达到最大。这表明,根外菌丝可能根据植物和 AM 真菌对锌的需求量来主动调节吸收锌的量,这样可以避免被动吸收过多的锌对植物和菌根本身造成伤害。

以上研究结果表明,在本试验中,接种 AM 真菌可以有效促进玉米的生长发育;AM 真菌根外菌丝可以吸收菌丝室中的锌,并从自身转运到宿主植物根系内,并进一步向地上部转运;根外菌丝吸收的锌可以促进宿主对锌的吸收和转运;AM 真菌根外菌丝对锌的吸收可能是主动调节吸收。

参考文献:

[1]Chen B, Christie P, Li X. A modified glass bead compartment cultivation system for studies on nutrient and trace metal uptake by arbuscular mycorrhiza[J]. Chemosphere,2001,42(2):185-192.

[2]Joner E J, Briones R, Leyval C. Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium[J]. Plant and Soil,2000,226(2):227-234.

[3]Gonzalez-Chavez C, D'haen J, Vangronsveld J, et al. Copper sorption and accumulation by the extraradical mycelium of different *Glomus* spp. (arbuscular mycorrhizal fungi) isolated from the same polluted soil[J]. Plant and Soil,2002,240(2):287-297.

[4]Rufyikiri G, Thiry Y L, Wang L, et al. Uranium uptake and translocation by the arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus intraradices*, under root-organ culture conditions [J]. New Phytologist,2002,156(2):275-281.

[5]Rufyikiri G, Thiry Y S. Contribution of hyphae and roots to uranium uptake and translocation by arbuscular mycorrhizal carrot roots under root-organ culture conditions[J]. New Phytologist,2003,158(2):391-399.

[6]Declerck S, Dupré de Boulois H, Bivort C, et al. Extraradical

邸娜, 韩海军, 郑喜清, 等. 种子引发对盐胁迫下向日葵种子萌发的影响[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(2): 49–52.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.02.013

种子引发对盐胁迫下向日葵种子萌发的影响

邸娜¹, 韩海军², 郑喜清¹, 李旭红¹, 韩凤霞³

(1. 河套学院农学系, 内蒙古巴彦淖尔 015000; 2. 内蒙古自治区巴彦淖尔市农牧业技术推广中心, 内蒙古巴彦淖尔 015000;
3. 内蒙古自治区巴彦淖尔市种子管理站, 内蒙古巴彦淖尔 015000)

摘要:以向日葵葵品种 LD 3939 为试验材料, 设置 2 个种子引发处理: (1) 用 100 mmol/L NaCl 溶液对种子引发处理 0、4、8、12、24、36 和 48 h; (2) 用 0、50、100、150、200、250 和 300 mmol/L NaCl 溶液对种子引发处理 12 h。在以上 2 个处理基础上, 研究其对 100 mmol/L NaCl 溶液胁迫条件下向日葵种子萌发的影响。研究表明, 种子引发可显著提高盐胁迫下向日葵种子的吸水速度和吸水量, 随种子引发时间的延长和引发浓度的增加, 种子的发芽率、发芽势、发芽指数呈先增高后降低的趋势, 而平均发芽时间则呈相反趋势。用 100 mmol/L NaCl 溶液对种子引发处理 8 h, 或用 50 mmol/L NaCl 溶液对种子引发处理 12 h, 可显著促进向日葵种子在盐胁迫下萌发, 缩短萌发周期, 提高萌发质量, 增强耐盐性。

关键词:向日葵; 种子引发; 盐胁迫; 种子萌发

中图分类号: S565.504 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)02-0049-04

目前, 土壤盐渍化已经成为世界性难题, 据联合国教科文组织和世界粮农组织不完全统计, 全世界盐碱地面积约 9.54 亿 hm^2 。我国盐渍化土壤面积庞大, 各类盐碱地面积总计 9 913.3 万 hm^2 , 其中盐渍化土壤面积约 3 693.3 万 hm^2 , 残余盐渍化土壤面积约 4 486.7 万 hm^2 , 潜在盐渍化土壤面积约 1 733.3 万 hm^2 ^[1]。盐胁迫对植物产生的伤害主要表现在渗透胁迫、离子毒害和营养亏缺^[2], 即土壤盐碱化使土壤溶液的浓度和渗透压增加, 引起植物根系吸水困难, 导致植物产生生理性干旱; 同时盐分在植物体内大量积累, 影响植物正常的生理代谢, 对植物产生毒害作用; 盐渍化土壤中 Na^+ 和 Cl^- 对植物吸收其他矿质养分产生拮抗作用, 造成植物体营养亏缺,

影响同化产物积累^[3]。重度盐渍化土壤严重影响植物的正常生长发育, 甚至导致植物难以生长, 土地不能耕种。

向日葵对土壤具有一定的脱盐作用, 已成为开发盐碱地、生物治理盐渍化土壤的首选作物。虽然向日葵对盐碱有一定的忍耐力, 但忍耐力有限, 且品种间差异较大。研究表明, 盐胁迫下种子发芽率可用来评价向日葵的耐盐性^[4-5]。因此本研究以种子引发的方式处理向日葵种子, 研究种子引发对向日葵种子萌发的影响, 以期为进一步提高盐渍化土壤中向日葵的出苗率提供一个参考途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验所用材料为向日葵葵品种 LD 3939, 购自当地种子市场。

1.2 试验方法

1.2.1 种子引发处理 设置引发时间和引发浓度 2 个处理,

135(2):353–360.

[10] Wang F Y, Liu X Q, Shi Z Y, et al. Arbuscular mycorrhizae alleviate negative effects of zinc oxide nanoparticle and zinc accumulation in maize plants; a soil microcosm experiment[J]. *Chemosphere*, 2016, 147:88–97.

[11] 李 帅, 刘雪琴, 王发园, 等. 纳米氧化锌、硫酸锌和 AM 真菌对玉米生长的影响[J]. *环境科学*, 2015, 36(12):4615–4622.

[12] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2013.

[13] Harper F A, Smith S E, Macnair M R. Can an increased copper requirement in copper-tolerant *Mimulus guttatus* explain the cost of tolerance? II. Vegetative growth[J]. *New Phytologist*, 1997, 136(3):455–467.

[14] Liu X Q, Wang F Y, Shi Z Y, et al. Bioavailability of Zn in ZnO nanoparticle-spiked soil and the implications to maize plants[J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2015, 17(4):175–185.

收稿日期: 2016-08-23

基金项目: 内蒙古自治区高校研究项目(编号: NJZY266)。

作者简介: 邸娜(1983—), 女, 河北卢龙人, 硕士, 讲师, 主要从事植物逆境生理研究。E-mail: 370526637@qq.com。

mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus lamellosum* can take up, accumulate and translocate radiocaesium under root-organ culture conditions[J]. *Environmental Microbiology*, 2003, 5(6): 510–516.

[7] Hutchinson J J, Young S D, Black C R, et al. Determining uptake of radio-labile soil cadmium by arbuscular mycorrhizal hyphae using isotopic dilution in a compartmented-pot system[J]. *New Phytologist*, 2004, 164(3):477–484.

[8] Bürkert B, Robson A. ⁶⁵Zn uptake in subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a root-free sandy soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1994, 26(9):1117–1124.

[9] Joner E J, Leyval C. Uptake of ¹⁰⁹Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae*/*Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium[J]. *New Phytologist*, 1997,