

# 过量钠盐胁迫对 3 种外生菌根真菌生长和钠元素积累的影响\*

黄 艺<sup>1\*\*</sup> 姜学艳<sup>1</sup> 季海波<sup>1</sup> 许天平<sup>2</sup>

(北京大学环境学院环境科学系 北京 100871)<sup>1</sup> (胜利油田仙河园林公司 东营 257000)<sup>2</sup>

**摘要:** 通过测定 3 种外生菌根真菌—美味牛肝菌 (*Boletus edulis*)、红绒盖牛肝 (*Xerocomus chrysenteron*) 和铆钉菇 (*Gomphidius viscidus*) 在  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  和  $\text{NaCl}$  处理下的菌斑增长特性、生物量积累和菌丝中钠元素积累量显示, 2 种盐都没有影响菌丝的生长模式。但在 0.1 mol/L 浓度下,  $\text{NaCl}$  显著抑制了 *X. chrysenteron* 和 *G. viscidus* 的干重增长; 在  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  处理下, *X. chrysenteron* 生物增长量比对照显著增加, *G. viscidus* 则降低, 而 2 种盐处理对 *B. edulis* 的生物量积累没有显著影响。3 供试菌种在 2 种盐处理下, 其对钠元素的吸收和积累量差异显著。 $\text{NaCl}$  处理下, *X. chrysenteron* 菌丝积累的钠量最多, 而在  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  条件下, *B. edulis* 菌丝中钠积累量显著高于其他 2 菌种。

**关键词:** 外生菌根真菌, 钠盐胁迫, 生长, 元素积累

中图分类号: Q93 文献标识码: A 文章编号: 0253-2654 (2004) 03-0045-05

## Influence of Excessive Na Stress on Growth and Element Accumulation of Three Species of Ectomycorrhizal Fungi

HUANG Yi JIANG Xue-Yan JI Hai-Bo XU Tian-Ping

(Department of Environmental Sciences in College of Environmental Sciences,  
Peking University, Beijing 100871)<sup>1</sup>

(Garden Company of Xianhe, Shengli Oil Field, Dongying 257000)<sup>2</sup>

**Abstract:** This study deals with colony expansion characteristics, biomass increment and Na accumulation in mycelia of three ectomycorrhizal fungi (*Boletus edulis*, *Xerocomus chrysenteron* and *Gomphidius viscidus*) under treatment of  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and  $\text{NaCl}$ . The experimental results showed that no impact was observed from  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and  $\text{NaCl}$  treatments on the growth mode of the mycelia, but the biomass increment of *X. chrysenteron* and *G. viscidus* was significantly restrained under 0.1 mol/L  $\text{NaCl}$ . Under the treatment of  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , biomass increment of *X. chrysenteron* is significantly higher than the control, but the biomass of *G. viscidus* is lower than that of the control, and no significant impact was measured on growth of *B. edulis* under both treatments of  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and  $\text{NaCl}$ . The experiment also indicated that Na accumulation in mycelia varied significantly among the three tested strains, highest Na accumulation was measured in *X. chrysenteron* under treatment of  $\text{NaCl}$ , while under the treatment of  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , accumulation of Na in *B. edulis* is much higher than the other two strains.

**Key words:** Ectomycorrhizal fungi, Sodium salt stress, Growth, Element accumulation

作为与植物共生的微生物之一, 菌根真菌可以促进植物在盐碱环境下的生长, 增加植物对环境中过量 Na 离子的耐受性, 减轻其对植物的毒害。这在大量关于 VM 和 AM

\* 国家自然科学基金资助项目 (No. 40021101)

Project Granted by Chinese National Science Fund (No. 40021101)

\*\* 联系人 E-mail: yhuang@pku.edu.cn

收稿日期: 2003-06-26, 修回日期: 2003-10-28

的研究中得到了证明。这些研究者认为,菌根真菌可以促进植物对矿质元素的吸收,促进植物体内元素平衡;改善植物水分吸收等方式,增加植物体抗盐碱性。

大量研究表明,通过给盐碱地上的植物接种 VA 或 AM 菌,可以促进其生长,但对外生菌根真菌促进盐碱地植物生长的研究甚少。而盐碱地林业育苗的绝大部分乔灌木都是外生菌根植物,因此对外生菌根真菌促进宿主植物在盐碱地环境生长的研究就尤显重要。而盐碱地土壤由于成因不同,其物理化学性质存在很大差异。根据成因,盐碱土壤可分为以氯化物为主的盐渍类型和以硫化物为主的盐渍类型。例如在黄河三角洲地区就是以氯化物为主的盐渍类型,据盐离子分析结果表明,其土壤中阴离子  $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{HCO}_3^-$  的相对含量分别为 86.27%、10.31%、3.42%<sup>[1]</sup>。因此,在考虑菌种对盐碱环境的抗性时,要针对盐渍环境的不同类型开展研究和试验工作。

因此,本试验分别研究了  $\text{NaCl}$  和  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  2 种钠盐对 3 种外生菌根真菌生长和元素积累的不同影响,探讨不同外生菌根真菌对钠盐的反应,为进一步研究外生菌根真菌抗钠盐胁迫的生理机制及盐碱地的生物恢复提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌种

美味牛肝菌 (*Boletus edulis*)、红绒盖牛肝 (*Xerocomus chrysenteron*) 和 铆钉菇 (*Gomphidius viscidus*), 均采自北京西山松阔混交林, 由北京林业大学雷增普教授鉴定。

### 1.2 母菌培养

将改良 Kottke<sup>[2]</sup> 营养液中按 15g/L 的浓度加入琼脂后,  $1.4 \times 10^5 \text{ Pa}$  高温灭菌 20min, 冷却至 50℃ 注入灭菌培养皿, 制备成半固体培养基。分别接种 3 供试菌种于培养皿半固体培养基上, 移入 24.5℃ 恒温箱内培养 1 周, 备用。

### 1.3 试验处理

分别称取  $\text{NaCl}$ 、 $\text{Na}_2\text{SO}_4$  加入 15g/L 琼脂的 Kottke 营养液, 制成浓度为 0.1mol/L pH6.2 的半固体培养基, 在  $1.4 \times 10^5 \text{ Pa}$  高温下灭菌 20min, 将 20mL 倾入直径为 10cm 的无菌培养皿内, 冷却后待用。将面积为 5mm × 5mm 的菌块从母菌培养中取出, 接种于上述含过量 Na 的培养基中, 置于 24.5℃ 恒温箱内培养。其中每个菌种 4 个重复, 以 Kottke 半固体培养基为对照。处理数为 3 × 3 × 4。

### 1.4 测定方法

菌斑直径: 3 菌种菌斑呈圆型增长, 直径取垂直方向所测的 2 次平均值。每 3d 定时测定 1 次。

菌丝干重: 将固体培养基用 200mL 去离子水在电炉上加热溶解, 定性滤纸过滤后, 菌丝用 60℃ 去离子水冲洗; 将菌丝体连同滤纸置于干燥器内风干 48h, 分析天平称重。

钠元素含量: 将称重后的菌丝置于 50mL 烧杯中, 向烧杯中滴加 5mL 98%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  溶液, 于 300℃ 温度下在电热板上加热消解 30min, 然后向烧杯中逐滴滴加  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 直到溶液中菌丝残留物全部消解, 继续加热 30min, 使剩余酸溶液挥发, 冷却后将菌丝消化液定容到 50mL。用原子吸收分光光度计 (Z-5000) 测定菌丝消化液中钠含量。

### 1.5 数据处理

用 Excel (Microsoft) 进行方差分析, 用 origin6.1 做生长模式拟合。

2 试验结果

2.1 过量钠盐对菌丝生长模式的影响

对生长在不同钠盐处理的半固体培养基上的 3 种测试菌落直径连续测定, 结果作非线性拟合, 显示如图 1。

3 菌种直径增长均为典型 S 生长曲线, 但不同菌种表现出不同的生长特性 (图 1)。*X. chrysenteron*、*B. edulis* 和 *G. viscidus* 菌种同时 在第 3d 进入直线增长期, 增长斜率分别为 0.975, 0.806 和 1.020, 其中 *G. viscidus* 菌种在直线增长期的增长斜率最大。*X. chrysenteron* 第 10d 达到 6.35cm, 进入缓和生长阶段, 到第 15d 收获时菌斑直径为 9.00cm; *B. edulis* 和 *G. viscidus* 分别 在第 12d 达到 8.18cm, 9.25cm 后才进入缓和生长, 15d 内达到 10.00cm, 充满整个培养皿。

盐处理没有改变菌斑直径增长模式, 3 菌种在 2 种不同 Na 盐处理下的增长模式依然为典型指数增长模型 (表 1)。从图 1 可以看出, NaCl 和 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 没有对生长前期的 *B. edulis* 和 *G. viscidus* 产生显著影响, 只改变了直线增长期的增长斜率, 收获时菌斑直径接近于对照情况。*X. chrysenteron* 菌斑直径增长模式对 NaCl 和 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 反应不同。NaCl 抑制了菌丝的前期生长, 使菌斑直径增长到第 6d 才进入直线增长期, 到 12d 就进入了缓和增长期。Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 对 *X. chrysenteron* 的前期增长并没有产生显著影响, 但直线增长期只有 5d, 在第 8d 进入缓和生长期。生长模式的不同, 导致收获时菌斑直径有显著性差异 (图 2a)。在过量 NaCl 处理下, *X. chrysenteron* 直径增长显著减小, 收获时只为对照的 72.8%, *B. edulis* 和 *G. viscidus* 菌斑直径增长与对照没有差异。

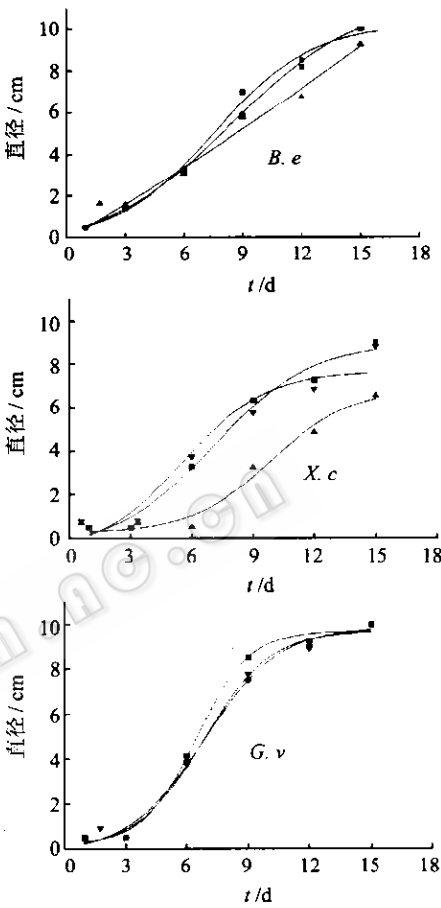


图 1 不同钠盐处理对菌落直径生长的影响  
■ Control, ▼ 0.1mol/L NaCl, ◆ 0.1mol/L Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

表 1 过量 Na 盐胁迫下 3 种测试菌种菌丝生长模型

	Control	0.1mol/L NaCl	0.1mol/L Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
<i>B. edulis</i>	$D = -10.46069 / (1 + e^{(+7.5377) / 2.5176}) + 10.251 (R^2 = 0.99)$	$D = -12.15923 / (1 + e^{(+8.4247) / 3.3414}) + 11.525 (R^2 = 0.9997)$	$D = -71.404 / (1 + e^{(+77.286) / 24.673}) + 53.559 (R^2 = 0.99)$
<i>X. chrysenteron</i>	$D = -9.44922 / (1 + e^{(+7.0531) / 2.3852}) + 8.9457 (R^2 = 0.985)$	$D = -6.58232 / (1 + e^{(+9.8604) / 1.9263}) + 6.8233 (R^2 = 0.981)$	$D = -11.7766 / (1 + e^{(+6.6225) / 3.8444}) + 9.6920 (R^2 = 0.979)$
<i>G. viscidus</i>	$D = -9.52853 / (1 + e^{(+6.4625) / 1.2811}) + 9.6901 (R^2 = 0.997)$	$D = -9.728848 / (1 + e^{(+6.8189) / 1.6338}) + 9.7082 (R^2 = 0.994)$	$D = -10.0715 / (1 + e^{(+6.8332) / 1.8441}) + 9.8734 (R^2 = 0.995)$

Growth model  $D = (A1-A2)/(1 + e^{(+t)/\alpha}) + A2$ , D-Diameter, t time

2.2 对生物量积累的影响

3 测试菌种在培养基中菌斑干重存在显著差异, 其中 *B. edulis* 干重最大, 显著高于其他 2 个菌种, 其重量分别为 *X. chrysenteron* 和 *G. viscidus* 的 8.22 和 3.60 倍 (如图 2b)。

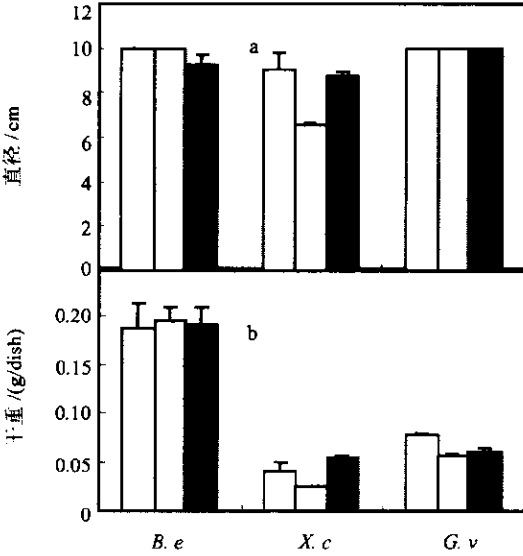


图 2 2 种钠盐条件下菌生长比较 (n=4)  
□ Control, ■ 100mmol/L NaCl, ▨ 100mmol/L Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

积累量显著高于其他 2 菌种, 为对照的 12.37 倍, 比 *X. chrysenteron* 和 *G. viscidus* 高 55.82% 和 123.55%, 且 3 菌种间差异性显著。

3 测试菌丝的干重对不同 Na 盐反应不同 (图 2b)。NaCl 显著抑制了 *X. chrysenteron* 和 *G. viscidus* 的干重增长, 与对照相比, 分别减少 38.36% 和 23.90%, 而处理下 *B. edulis* 干重积累与对照没有显著差异。经 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 处理, *X. chrysenteron* 生物增长量显著增加 40.13%, 而 *G. viscidus* 生物量却比对照少 23.31%, 且差异性显著。*B. edulis* 的干重积累与对照无显著差异。

2.3 对菌丝中钠元素积累量影响

在过量钠盐处理下, 菌丝中 Na 含量显著增高 (图 3)。在 NaCl 处理下, *X. chrysenteron* 菌丝积累的钠量最多, 为对照的 8.12 倍, *G. viscidus* 积累量最少, 为对照的 7.96 倍。与 NaCl 处理不同, 在 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 条件下, *B. edulis* 菌丝中的钠

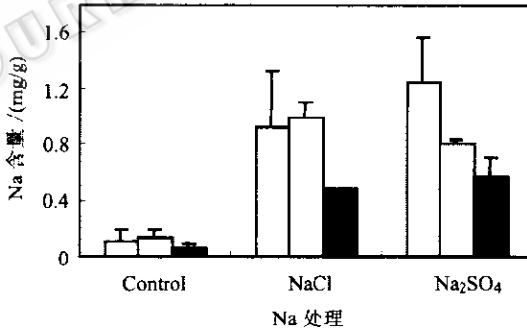


图 3 不同钠盐处理下菌丝中钠元素积累量 (n=4)  
□ *B. e*, ■ *X. c*, ▨ *G. v*

同一菌种对不同钠盐中钠的积累存在显著差异。由图 3 可以看出, 生长在 NaCl 中的 *B. edulis* 和 *G. viscidus*, 其钠积累量分别低于生长在 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 中 26.84% 和 13.6%, 而 *X. chrysenteron* 在 NaCl 中的钠积累量显著高于 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 中的 24.03%。

3 讨论与结论

地球上现有盐渍土面积 10<sup>9</sup> ha, 约占世界土地总面积的 10%。高度盐渍化的土壤不能为作物提供正常的水、肥、气、热条件, 使得植物不能正常生长, 甚至死亡<sup>[3]</sup>。虽

然盐渍化也会对土壤中微生物产生毒害,但是有许多菌根真菌等微生物具有耐受盐胁迫的能力,可以在高盐度环境下生长<sup>[4]</sup>。将这些菌根真菌引进土壤中,可以促进植物的早期生长,增加植物对盐渍环境的抗性。有研究证明,菌丝在土壤迅速蔓延的菌种,显示其具有较强适应新环境的能力<sup>[5]</sup>,在本试验供试3种外生菌根真菌中,*G. viscidus*在盐胁迫条件下的直线增长率最高,占领空间的速度最快,说明其对新环境适应快,是改良盐碱地环境良好的先锋种。

不同菌根真菌对环境中的过量盐,具有不同的抗性。*B. edulis*在0.1mol/L NaCl盐浓度下,其生长未受影响,0.1mol/L  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 甚至促进了*X. chrysenteron*的生长,而0.1mol/L NaCl显著抑制了*X. chrysenteron*和*G. viscidus*的生长,过量 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 亦抑制了*G. viscidus*的生长。(图2b)。这个结果与其他研究者的结果相似。Nagarajan等发现,适量高盐对菌根真菌细胞质代谢有促进作用<sup>[6]</sup>。但盐含量过高,影响细胞质代谢,蛋白质减少,抑制菌丝的生长<sup>[7]</sup>。Blomberg指出,在0.05~0.20mol/L浓度范围内,NaCl皆抑制了植物和菌丝的酶的活动<sup>[8]</sup>。

不同钠盐对同样菌种的生长亦有不同影响,其中NaCl对菌丝生长的抑制作用更为明显。除*B. edulis*之外,NaCl处理严重抑制了*X. chrysenteron*和*G. viscidus*的生长。Renault等对植物的研究中得到了类似的结果,他们认为导致NaCl对植物生长抑制程度比 $\text{Na}_2\text{SO}_4$ 强的原因,可能是Cl离子对生物酶活性具有很强的抑制作用<sup>[9]</sup>。

菌丝对元素的吸收和积累量,可能反映了菌丝对该元素的过量胁迫的抗性能力<sup>[10]</sup>。在本试验中,*B. edulis*积累了最多量的钠盐,而且其单位重量中钠元素积累量也很高。菌根真菌将环境中过量的盐积累在菌丝中,可能与植物结合后,滞留大量的有害元素,减少环境过量元素的生理毒害,提高植物对钠盐胁迫的抗性。

当然,菌根真菌与植物接种后的表现,可能与离体培养下的表现不同。菌根真菌对环境中过量盐的抵抗能力和抗性机理,有待于在菌根植物中做进一步的探讨。

## 参 考 文 献

- [1] 郭洪海,赵树慧,史立本,等.资源科学,1994,3:13~18.
- [2] Kottke J, Gittenberger M, Hammann R. Trees, 1987, 1: 191~194.
- [3] 江泽慧.世界及中国盐渍土改良利用概况.见:中国盐碱地绿化造林与可持续发展研讨会论文集.天津:天津科学技术出版社,2001.26~29.
- [4] Hutchison L J. Canadian Journal of Botany, 1990, 68: 2172~2178.
- [5] 黄 艺,陶 澍,姜学艳,等.微生物学报,2002,42(6):737~744.
- [6] Nagarajan G, Natarajan K. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 1999, 15: 197~203.
- [7] Kernaghan G, Hambling B, Fung M, et al. Restoration Ecology, 2002, 10(1): 43~51.
- [8] Blomberg A, Adler L. Tolerance of Fungi to NaCl In: Tennings D H. Stress Tolerance of Fungi. New York: Marcel Dekker, Inc., 1993. 209~232.
- [9] Sylvie R, Clare C, Jennifer A, et al. Plant and Soil, 2001, 233: 261~268.
- [10] Denny H J, Ridge I. New Phytol, 1995, 130(2): 251~257.