

内外生菌根真菌对重金属的耐受性及机理

廖继佩 林先贵 曹志洪

(中国科学院南京土壤研究所 南京 210008)

摘 要 本文从内外生菌根真菌对重金属的耐受性和耐受机理,以及将菌根真菌作为重金属污染程度的生物指示剂和重金属生物修复等方面对菌根真菌和重金属的相互作用作了较全面的论述。重金属对生物圈的污染是一个严重的环境和健康问题。某些内外生菌根真菌对重金属具有耐受性。菌根真菌菌丝能与金属相结合而限制它们向菌根植物地上部迁移,从而可达到植物稳定和保护植物免遭重金属毒害的目的。内外生菌根真菌对重金属的耐受性因菌种、重金属种类和浓度、与宿主植物共生与否以及所生长的土壤条件等而异,同时种内菌株之间也有差异。菌根真菌通过离子交换,络合物的形成,沉淀或结晶化作用等方式获得对重金属的耐受性,其子实体内重金属含量,繁殖体密度和侵染势可作为重金属污染程度的生物指示剂。

关键词 外生菌根真菌;内生菌根真菌;重金属;耐受性

中图分类号 Q949.32; Q948.12

人类活动对生物圈所造成的重金属污染,已成为一个严重的环境和健康问题。由于重金属不能化学降解,所以当今对重金属污染土壤的修复主要限于固定或提取/浓缩技术^[1]。其中植物稳定是一种临时的措施,因为金属没有被消除,从而随着时间的推移,大量根际金属就会被植物吸收,通过食物链对动物造成很大的危险。由于这些方面的原因,起稳定作用的植物也应该在根系中固定金属和地上部有较低的积累作用。与非耐性植物相比,重金属耐性植物地上部金属浓度常低一些,而地下部浓度常高一些。生长在重金属污染土壤中的菌根植物其真菌菌丝能与金属结合,限制重金属向菌根植物地上部迁移,可增加宿主植物耐受重金属的能力,有助于达到植物稳定和植被重建的目的,所以许多科研工作者对菌根真菌产生了很大的兴趣。为了将菌根真菌应用于重金属污染地的修复,有必要全面地了解这些真菌对重金属的耐受性和耐受机理。

1 菌根真菌对重金属的耐受性

菌根真菌包括内生菌根真菌(VAMF),外生菌根真菌(ECMF)及一些其它类型的菌根真菌,它们可以侵染自然界中绝大多数高等植物的根系形成菌根共生体。许多研究表明,重金属污染土壤中常有菌根真菌存在。Gildon等^[2]发现,在金属严重污染($Zn > 83000 \text{ mg/kg}$, $Cd > 863 \text{ mg/kg}$)的废矿墟上自

然生长的三叶草其菌根侵染率为35%。Diaz等^[3]通过在DTPA萃取态Zn和Pb含量分别高于236mg/kg和456mg/kg的尾矿上种植紫苜蓿发现,尽管这些污染土壤中的丛枝菌根真菌的孢子数远低于附近不受开采干扰的土壤中的孢子数,但这些孢子仍有一定的侵染力。Weissenhorn等^[4,5]也发现,冶炼厂的大气沉降物和污泥改良剂所造成的重金属污染土壤中的菌根侵染率也较高。由此可知,菌根真菌对金属具有耐受性,并能侵染生长在重金属污染地的植物。

1.1 外生菌根真菌对重金属的耐受性

外生菌根真菌对环境胁迫因子的敏感性因菌种不同而异,同时种内菌株之间也有差异(表1)。Willenborg^[6]报道,Amanita muscaria(蛤蟆菌)和Hebeloma crustuliniforme(大毒粘滑菇)比其它真菌更耐Cd和Hg。Colpaert^[7]指出,A. muscaria是所测试真菌中耐Cd和Zn能力最强的真菌。Thompson^[8]观察到,种间和种内菌株之间对Al和Mn的耐受性有差异。在160mg/kg的Cu中Laccaria和Paxillus能够生长,而Scleroderma citrinum对Cu敏感得多,只有将溶液中Cu的浓度降低10倍时它才有所生长^[9]。

不同菌根真菌对不同重金属及不同浓度的重金属反应差异也很大。将外生菌根真菌A. muscaria, Cenococcum graniforme(土生空团菌), Laccaria laccata, Pisolithus tinctorius(彩色豆马勃), Rhizopogon

表 1 一些耐受重金属的外生菌根真菌

Table 1 Some ectomycorrhizal fungi tolerant to heavy metals

菌根真菌	重金属	参照
<i>Hebeloma crustuliniforme</i> (Bull. ex St. Amans) Quel.	Cd, Hg	Willenborg, et al. 1990
<i>Hymenogaster</i> spp.	Al, Fe, Cu, Zn	Tam. 1995
<i>Laccaria laccata</i>	Cd	Galli, et al. 1993
<i>Laccaria laccata</i> (Scop. ex Fr.) Cooke	Cu	Howe, et al. 1997
<i>Paxillus involutus</i> (Batsch ex Fr.) Fr.	Cu	Howe, et al. 1997
<i>Paxillus involutus</i>	Cu	Tumau, et al. 1994
<i>Paxillus involutus</i>	Cd	Godbold, et al. 1998
<i>Pisolithus arrhizus</i> (Pers.) Rausch.	Cd, Cu, Fe	Tumau, et al. 1994
<i>Pisolithus tinctorius</i>	Cu, Ni	Aggangan, et al. 1981
<i>Pisolithus tinctorius</i>	Cd, Cu, Fe	Tumau, et al. 1994
<i>Pisolithus tinctorius</i> (Pers.) Coker and Couch	Cu, Zn, Al, Fe	Tam. 1995
<i>Scleroderma</i> spp.	Al, Fe, Cu, Zn	Tam. 1995
<i>Thelephora terrestris</i>	Zn	Colpaert and Vanassch. 1992

roseolus (玫瑰色须腹菌) *Suillus brevipes* *S. grevillei* (厚环乳牛肝菌), *S. luteus* 和 *Thelephora terrestris* (疣革菌) 在 Hagem 营养琼脂于 20 °C 生长 28 天后发现, 它们的生长受到 Cd、Pb 和 Ni 的抑制。Cd 浓度为 350mg/kg 或更低时所有真菌均受到抑制。Pb 浓度为 200mg/kg 或更低时 5 种真菌受到抑制; 当 Pb 浓度达到 2000mg/kg 时 *C. graniforme*, *L. laccata* 和 *S. luteus* 才受到抑制。Ni 的浓度为 40, 175 和 225mg/kg 时 *A. muscaria*, *S. luteus* 和 *L. laccata* 才分别受到抑制^[10]。上述结果表明, 菌根真菌种群有特定的生态适应性, 同时对重金属的耐受性存在着很大的基因型差异。

一般认为, 重金属污染土壤中的土著菌根真菌耐受重金属能力较强。Colpaert 指出, 逐渐升高金属浓度对非污染土壤菌株的抑制要比从金属污染土壤分离到的 *S. Bovinus* 和 *S. Luteus* 菌株强^[7]。然而, 也能从无污染土壤中分离得到金属耐性真菌^[11]。另外, 金属之间的相互作用也影响金属对真菌的毒性。例如, 基质中 Zn 的存在可降低 Cd 对体外生长的外生菌根真菌的毒性^[7]。因此筛选耐受不同重金属的优良菌株是一项既费时又费力的工作。

外生菌根真菌可在人工纯培养的条件下生长, 也可脱离植物独立生存, 这有助于研究其菌丝和子实体对重金属的吸收。外生菌根真菌的菌丝可以积累大量的微量元素养分。供 Zn 量高时, 外生菌根菌丝中积累的 Zn 可高达 17400mg/kg^[12]。Colpaert 将

金属以可溶性盐形式加入培养基中, 进行纯培养试验研究了外生菌根真菌菌丝体对金属的吸收和积累, 发现 *Suillus bovinus* 的金属耐性和非耐性菌株体内金属浓度与土壤溶液金属浓度比值分别有: Cd 为 80 和 200, Zn 为 30 和 40^[7], 可见耐性菌株对重金属的吸收量要低于非耐性菌株。对 Hg 而言, 一些外生菌根真菌体内 Hg 的浓度可达矿地土壤 Hg 浓度的 60 倍以上^[13]。Gast^[14]在田间观察到, 外生菌根真菌能在它们的子实体中积累高量的 Cd, 维持一定浓度的 Zn 和 Cu, 排斥 Pb, 这表明真菌对 Cu 和 Zn 等必需营养元素的吸收起着调节作用。

离体条件下菌丝对重金属的耐受性与植物共生时有很大的差异。例如, 纯培养的条件下, *Scleroderma citrinum* 真菌的菌丝对介质中高量的 Zn 很敏感, 当它与宿主植物 *Pinus sylvestris* 共生时, 它对 Zn 的耐性却很高^[12]。因此最好在与宿主植物共生的条件下研究外生菌根真菌菌丝对重金属的吸收和耐受性。

1.2 内生菌根真菌对重金属的耐受性

到目前为止, 已经从污染土壤中分离到许多耐受不同重金属的内生菌根真菌 (表 2)。Griffioen^[15]发现, 仅在 Zn/Cd 污染地有与 *Agrostis capillaris* 植物共生的耐性丛枝菌根真菌 *Scutellospora dipurpurea*, 而在 Cu 污染地中没有发现耐性丛枝菌根真菌。与外生菌根真菌一样, 从重金属污染土壤中获得丛枝菌根真菌一般对重金属的耐受性

要强些。如来自重金属污染土壤中的 *G. mosseae* 菌株对 Cd 和 Zn 的耐受性比从无污染土壤分离的菌株要强,其生长几乎不受 Cd 的抑制。另外,含 40mg/kg

CdNO₃ 土壤中的孢子比无污染土壤中的孢子更耐 Cd 和 Zn, Zn 污染土壤中的孢子更耐 Zn^[16]。

Table 2 在重金属污染地区与高等植物形成丛枝菌根的真菌 (括号内的重金属对土壤污染较弱)

Table 2 Fungal species having arbuscular mycorrhizal associations with higher plants on heavy metal contaminated areas
(Heavy metals polluting the soil to a less extent are given in parenthesis)

菌根真菌菌名	重金属	参照
<i>Acaulospora bireticulata</i>	Zn (Cu, Pb, Ni, Cd)	Sambandan, et al. 1992
<i>Acaulospora delicata</i> Walker, Pfeiffer & Bloss	Zn (Cu, Pb, Ni, Cd)	Sambandan, et al. 1992
<i>Acaulospora nicolsonii</i> Walker, Reed & Sanders	Pb	Walker, et al. 1984
<i>Gigaspora gigantea</i> (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe	Zn (Cu, Pb, Ni, Cd)	Sambandan, et al. 1992
<i>Glomus aggregatum</i> Schenck & Smith emend. Koske	Zn (Cu, Pb, Ni, Cd)	Sambandan, et al. 1992
<i>Glomus albidum</i> Walker & Rhodes	Zn (Cu, Pb, Ni, Cd)	Arines and Vilarino. 1991
<i>Glomus deserticola</i> Trappe, Bloss & Menge	Mn, Zn	Sambandan, et al. 1992
<i>Glomus deserticola</i>	Zn (Cu, Pb, Ni, Cd)	Ernst, et al. 1984
<i>Glomus fasciculatum</i> (Thaxter) Gerd. & Trappe emend. Walker & Koske	Fe, Mn, Zn	Dueck, et al. 1986
<i>Glomus fasciculatum</i>	Fe, Mn, Zn	Ietswaart, et al. 1992
<i>Glomus fasciculatum</i>	Cd, Zn	Ietswaart, et al. 1992
<i>Glomus fasciculatum</i>	Zn (Cu, Pb, Ni, Cd)	Sambandan, et al. 1992
<i>Glomus geosporum</i> (Nicol. & Gerd.) Walker	Zn (Cu, Pb, Ni, Cd)	Sambandan, et al. 1992
<i>Glomus intraradix</i> Schenck & Smith	Zn (Cu, Pb, Ni, Cd)	Sambandan, et al. 1992
<i>Glomus macrocarpum</i> Tul. & Tul.	Zn (Cu, Pb, Ni, Cd)	Sambandan, et al. 1992
<i>Glomus microcarpum</i> (Nicol. & Gerd.) Gerd. & Trappe	Cd (Zn)	Gildon and Tinker. 1981
<i>Glomus mosseae</i>	Cd (Zn)	Gildon and Tinker. 1983
<i>Glomus mosseae</i>	Mn	Bethlenfalvay and Franson. 1989
<i>Glomus occultum</i> Walker	Zn (Cu, Pb, Ni, Cd)	Sambandan, et al. 1992
<i>Glomus pubescens</i> (Sacc. & Ellis) Trappe & Gerd.	Zn (Cu, Pb, Ni, Cd)	Sambandan, et al. 1992
<i>Glomus tenue</i> (Greenall) Hall	Zn, Cu	Christie and Kilpatrick. 1992
<i>Glomus tortuosum</i> Schenck & Smith	Zn (Cu, Pb, Ni, Cd)	Sambandan, et al. 1992
<i>Sclerocystis rubiformis</i> Gerd. & Trappe	Zn (Cu, Pb, Ni, Cd)	Sambandan, et al. 1992
<i>Sclerocystis heterogama</i> (Nicol. & Gerd.) Walker & Sanders	Zn (Cu, Pb, Ni, Cd)	Sambandan, et al. 1992
<i>Sclerocystis weresubiae</i> Koske & Walker	Cu	Koske and Walker. 1986
<i>Scutellospora dipurpurescens</i>	Zn, Cd	Griffioen, 1994

不同菌种或菌株对不同浓度的重金属的耐受性表现不一。重金属处理对 *Glomus* sp. III 孢子密度影响很大,这种真菌生态型对土壤中逐渐增加的重金属显得很敏感,中等程度污染时 *Glomus* sp. III 被其它菌种(如 *G. claroideum*)所取代,在污染程度高的土壤中几乎完全消失。事实上,在所有处理中 *G. claroideum* 保持相似的相对密度,这表明,*G. claroideum* 耐受重金属的能力比其它真菌强^[17]。*Gigaspora* 属的真菌大部分显示对 Al 有较高的抗性,*Gi. margarita* 的孢子萌发和菌丝生长不受 Al 浓度影响,甚至 *Gi. albida* 孢子萌发率有时会随 Al 浓度上升而增加。*Scutellospora* 属中多数种的孢子萌发不受 Al 浓度影响,但却削弱了菌丝生长速度。

Glomus manihotis 是 Al 毒性极强的酸性砂质土中的优势土著菌根真菌,其孢子萌发不受土壤酸度和 Al 毒性的影响^[18]。

重金属能延迟、减少甚至完全抑制丛枝菌根和丛枝菌根真菌孢子的萌发,但有时对丛枝菌根真菌无影响。当用城市工业污泥处理土壤后,Zn 浓度与丛枝菌根侵染率呈负相关^[19]。然而对丛枝菌根真菌和 Cu^[10],或与 Zn 和 Cd^[20]相互作用的研究表明,污泥改良的农业土壤中重金属浓度与丛枝菌根真菌种群无相关性。可见,重金属与丛枝菌根真菌的相互作用是极其复杂的。

由于内生菌根真菌不能在无宿主的情况下生存,其对金属的耐受性就不能在纯培养中通过真菌

的生长来正确估计,所以更难以说明此类真菌的菌丝对金属的内在吸收作用。一般在共生条件下通过检验丛枝菌根真菌的孢子萌发、菌丝生长和产孢子能力来判断其对重金属的耐受性。Weissenhorn^[20,21]在含 Cd 的沙中和重金属污染土壤中检验了孢子的萌发力后指出,从金属污染土壤中分离到的 *Glomus mosseae* P2 (BEG 69)比从无污染土壤中分离的 *G. mosseae* 菌株 (BEG 12) 更耐 Cd。由于 Cd 对非菌根真菌的产孢子作用和孢子萌发作用比菌丝的生长更大^[22,23],这意味着应将抑制孢子萌发的浓度和抑制真菌菌丝生长的浓度区分开来,这对菌根真菌也同样适用。另外,人们采用将根外菌丝与根系分离的隔网分室系统来研究重金属与菌丝的相互作用。Joner^[24]将 ¹⁰⁹Cd 加入隔网分室系统中的菌丝室(只有菌丝能进入而根不能穿过)发现,根外菌丝可将 Cd 从土壤转移到根部,在菌丝室土壤中添加高达 100mg/kg 的 Cd 对菌丝长度无影响,并检测到年幼的孢子。

菌根真菌对重金属的耐受能力并不是固定不变的。从长期施用含 Zn 污泥的污染土壤中分离到的一种菌株对 Cd 和 Zn 有共耐受力,仅在 Cd 盐处理土壤 1 年后,就发现培养的混合真菌对 Cd 的耐受力有所提高^[19]。当丛枝菌根真菌长期处于高浓度重金属逆境下,存活的种群已能适应高浓度重金属的抑制,以致于生态环境对各季节中群落数变化的影响大于土壤中的重金属^[25]。可见,内生菌根真菌易适应外界环境因子的改变,且同一菌种因来源不同而对重金属的抗性有差异,从而可以通过筛选和驯化的方式提高菌根真菌对重金属的耐受性。

有人指出,将耐受金属的 *G. mosseae* 在无金属的基质中进行培养并不影响其对金属的耐受性,但研究也表明,在无金属的基质中繁殖 6 代后,与试验参照菌株 *G. mosseae* 相比污染土壤中的孢子丧失对 Cd 和 Zn 的耐受性^[20]。由于菌根真菌耐受重金属的稳定性也不同,所以将菌根真菌应用于重金属污染土壤的修复中应防止其退化。

2 菌根真菌耐受重金属的机理

所有生物,包括微生物,通过“排斥”限制对金属的吸收或通过“耐受”体内高浓度金属来获得对重金属的抵抗力^[11,26,27]。第 1 种机理包括降低吸收量或增加排出量,在细胞外形成化合物和释放有机酸等。第 2 种机理是金属通过与合成的配位体(如金属硫蛋白,多聚磷酸盐)在细胞内络合或在液泡内

固定。

2.1 外生菌根真菌耐受重金属的机理

针对外生菌根真菌对金属的耐受性已提出不同机理,涉及由于离子交换,给合物的形成,沉淀作用或结晶化作用^[28],使得重金属在菌丝内外以非毒性形式积累。对某些外生菌根真菌(如 *P. involutus*)而言,它们的细胞膜对必需元素(如 Cu 和 Zn)有运输/调节功能,对 Cd 有排斥作用,从而耐受机理有金属特异性^[14]。

许多真菌菌株或多或少拥有松结合态粘液(LAS),这些粘液的数量与真菌菌丝从溶液中吸收 Zn 的能力、真菌菌株对 Zn 的耐受性成正比^[29]。Denny^[30]曾报道,Zn 主要与 *P. tinctorius* 的细胞壁或菌丝外粘液结合,根外菌丝而不是哈蒂氏网或菌丝鞘上的菌丝,是外生菌根真菌 *Betula* spp. 积累金属的主要场所。黄芝等^[31]也指出,外生菌根真菌(*Suillus bovinus*)的菌丝分泌物对重金属的固定能力较强。对外生菌根真菌菌丝表面交换功能的研究表明,*Laccaria bicolor* S238 菌丝的阳离子代换量(CEC)为 2000~3000mmol/kg,而 *Paxillus involutus* 553 菌丝的 CEC 为 800~1200mmol/kg,且 *Paxillus involutus* 553 菌丝的 CEC 高于单子叶植物根系的 CEC^[32]。从而,真菌菌丝外表面是限制潜在毒性金属元素进入菌丝的第一道屏障。

真菌细胞成分如几丁质,纤维素,纤维素衍生物能与金属结合,其中几丁质能结合 90% 的外加重金属^[33,34]。许多真菌中的黑色素也是一种有效的生物吸附剂,可提高真菌对重金属胁迫的耐受性^[35]。由电子能量损失光谱法和电子光谱影象可知,*Pisolithus arrhizus* 菌丝体内重金属主要位于沉积在真菌细胞壁表面的色素和电子不透明颗粒中^[34]。所以真菌细胞壁是降低潜在毒性金属毒害真菌的第二道主要屏障。

重金属进入外生菌根真菌体内后,菌丝内特定的金属络合蛋白可对金属进行高积累。如 *Rozites caperata* 体内的 Cd, *Cortinarius* spp. 体内的 Cs, *A. muscaria* 体内的 Cd 和 Th, *Tricholoma album* 体内的 Tl 等都是通过特定金属结合蛋白与重金属络合而发生高积累^[36,37]。使用组织化学染色可知,纯培养中一些外生菌根真菌如 *Pisolithus tinctorius* 能产生类金属硫蛋白物质^[38]。Howe^[9]在含 Cu 的培养基质中检测到 *Laccaria* 的两株耐性菌株(GLac4 和 ELac1)的 Cu 结合蛋白,其中,从 *Laccaria* 菌株 ELac1 纯化的 Cu 结合蛋白在 SDS-PAGE 中只呈单一的带,

由其分子量和光谱学特征可知它是一种金属硫蛋白,但在耐受性最弱的菌株中没有检测到这种蛋白。对 *Paxillus* 菌株进行检测时发现也有相同的现象,并发现相同的蛋白,但在耐性较弱的 *S. citrinum* 中没有发现 Cu 结合蛋白。可见,在重金属胁迫下重金属耐性外生菌根真菌常通过产生金属硫结合蛋白来达到解毒的目的。

真菌体内的有机酸根离子或无机酸根离子如聚磷酸根也可与重金属形成晶体或沉淀,使得真菌体内重金属的浓度降低,且重金属的移动性减弱,达到耐受重金属的目的。Turnau^[27]通过能量分散 X 射线扫描电镜发现,在真菌菌丝中形成了含重金属的晶体。尽管对这些晶体的特性并不清楚,但它们可能与有机酸的分泌作用有关,且在重金属的存在下其含量有所增加。Crack 等在外生菌根真菌中也发现了草酸钙晶体^[39]。Vare^[40]用能量分散 X 射线分析发现,聚磷酸铝颗粒位于外生菌根真菌 *Suillus variegatus* 内,这可能就是在高浓度 Al 的生长基质中解除 Al 毒的机理。当对死的或衰老的菌丝进行观察时,菌丝隔膜孔隙被电子密集型物质所阻塞,细胞质和液泡残留物内重金属水平也有所提高^[20]。这一过程是由于酸性磷酸酶活性的增加,导致 HPO_4^{2-} 释放,它能与金属离子以一定比例共沉淀。这样真菌体内凡是与重金属形成晶体或沉淀的物质就成为解除重金属毒性的第三道屏障。

菌根真菌侵染后所引起的植物生理变化是否也影响真菌对重金属的耐受性?这需要作进一步的研究。

2.2 内生菌根真菌耐受重金属的机理

对内生菌根真菌而言,由于不能进行纯培养,所以这不利于研究内生菌根真菌耐受重金属的机理,其耐受高浓度重金属的机理仍不十分清楚。从内生菌根真菌有相对较长的代时和一个孢子有大量的核来考虑,其对金属迅速具有耐受性是建立在表型可塑性的基础上,而不是耐性基因的选择所致^[20]。

一些研究者认为丛枝菌根真菌具有较强的络合重金属元素的能力,真菌细胞壁分泌的粘液和真菌组织中聚磷酸、有机酸均能络合重金属,从而减少重金属向地上部的运输量^[41]。Kothari^[42]报道,由于丛枝菌根真菌侵染植物根系后,根系分泌物的数量和种类发生变化,导致菌根际 Mn 还原细菌的数量下降和/或菌根际 Mn 氧化细菌数量的增多,所以菌根根系 Mn 氧化势高于非菌根对照根系,从而降低了 Mn 对菌丝和植物根系的生物有效性,这可能是

减轻 Mn 毒的一个机制。与无污染土壤的 Cd0 孢子相比,从 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ 处理的土壤中获得 Cd40 孢子其萌发作用更耐 Cd 和 Zn^[20]。由于这一研究中并没有在孢子萌发前对其进行灭菌,因此应考虑依附于 AM 孢子表面的许多细菌(大约有 $10^4 \sim 10^5$ /个孢子)。这些细菌本身可能或通过提高孢子的萌发作用^[43]或固定金属来对金属进行耐受和减轻对 AM 孢子的毒害。总体来说,真菌菌丝体可能对解除金属的毒害作用最大^[44],而且金属可以暂以多聚磷酸盐的形式沉积在真菌中,或以果胶酸类物质的形式沉积在真菌的寄主植物根系的界面上。一些真菌在高 Cd 时能形成一些磷酸结合蛋白、巯基金属结合蛋白^[18],但是否在所有重金属毒害情况下菌根植物都形成这些蛋白还不清楚,这有待于进一步研究。另外,与其它微生物相比,AM 菌丝有较高的 CEC 和金属吸附能力^[45],这有助于耐受重金属。

总之,由于丛枝菌根真菌是一种活体营养真菌,许多关于此类真菌对重金属的耐受机理研究还不够深入,或只是猜测和推断而已,所以很有必要应用电子能量损失光谱法,电子光谱影象,核磁共振及能量分散 X 射线扫描电镜等先进手段和方法对该类真菌耐受重金属的机理作进一步研究。

3 应用

外生菌根真菌已被建议作为空气污染的生物指示剂,其子实体也是环境放射性污染的潜在有用的生物指示剂。由于金属积累依赖于真菌种类,即使同一种真菌也有很大的差异,所以应取足够多的样品以减少误差。在乌克兰包括切尔诺贝利地区所进行的研究揭示,在真菌子实体里的放射性 Cs 的含量与样品采集地放射性 Cs 的沉积有密切相关性^[11]。与外生菌根真菌一样,内生菌根真菌也具有作为生物监测的潜力。金属污染土壤中内生菌根真菌的出现率(繁殖体密度)和侵染势的下降可作为土壤污染的生物指示剂^[46]。土壤修复后植物根系的菌根真菌侵染预示着金属浓度或生物有效性已经下降。因为某些来自金属污染土壤中的真菌已经具有金属耐受性,所以可用敏感的 AM 真菌来检测任何金属污染土壤中的菌根侵染率,这样可对金属毒性提供有用的信息。

外生和内生菌根共生在保护植物根系免受重金属毒害中起着极其重要的作用。然而,这种保护作用的效果因不同菌根真菌和不同重金属而异。在内生菌根中,菌根植物根中 Zn 和 Cu 含量也常常显著

高于地上部^[47]，亦即内生真菌的菌丝络合物为宿主植物根内的皮层细胞提供了吸附表面，金属可以在根部或根器官的真菌组织中大量积累，从而有利于排斥金属进入地上部和避免金属毒性，降低重金属对地上部的毒害促进了植物的生长，外生菌根真菌也以同样方式对植物起着保护作用。

可见，菌根真菌能作为生物修复剂。一方面，菌根真菌对保护植物免受重金属毒害能起到一些作用；另一方面，在污染土壤中宿主植物能赋予真菌一定的选择性生存优势。从生物修复的目的来看，这种互惠互利的菌根共生体优于只使用单一的生物（或非菌根植物或自由生活的微生物）。

由于菌根真菌对重金属的耐受性因重金属种类和浓度，生境，宿主植物类型等的不同而异，所以在利用菌根真菌对重金属污染土壤进行修复之前必须做大量的工作，以选出与宿主植物兼容且耐特定重金属和适应特定生境的优良菌根真菌。同时，究竟以什么指标来评价菌根真菌对重金属的耐受性是一个值得探讨的问题。另外，也应较系统地研究其它菌根真菌如兰科、杜鹃类菌根真菌对重金属的耐受性。

参考文献

- 1 Salt DE, et al. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Biotechnology*, 1995, 13: 468~474
- 2 Gildon A and Tinker PB. A heavy metal tolerant strain of a mycorrhizal fungus. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 1981, 77: 648~649
- 3 Diaz G and Honrubia M. Infectivity of mine soils from southeast Spain. *Mycorrhiza*, 1993, 4: 85~88
- 4 Weissenhorn I, et al. Bioavailability of heavy metals and abundance of arbuscular mycorrhiza in a soil polluted by atmospheric deposition from a smelter. *Biol. Fertil. Soils*, 1995, 19: 22~28
- 5 Weissenhorn I, et al. Bioavailability of heavy metals and arbuscular mycorrhiza in sewage sludge amended sandy soils. *Soil Biol. Biochem.*, 1995, 27: 287~296
- 6 Willenborg A, et al. Effect of environmental stress factors on ectomycorrhizal fungi *in vitro*. *Can. J. Bot.*, 1990, 68: 1741~1746
- 7 Colpaert JV and Van Assche JA. The effect of Cadmium and the Cadmium-Zinc interaction on the axenic growth of ectomycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 1992, 145: 237~243
- 8 Thosmpson GW and Medve RJ. Effects of Aluminium and Manganese on the growth of ectomycorrhizal fungi. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1984, 48: 556~560
- 9 Howe R, et al. Copper-binding proteins in ectomycorrhizal fungi. *New Phytol.*, 1997, 135: 123~131
- 10 McCreight JD and Schroeder DB. Inhibition of growth of nine ectomycorrhizal fungi by Cadmium, Lead and Nickel *in vitro*. *Environ. Experi. Bot.* 1982, 22 (1): 1~7
- 11 Leyval C, et al. Inhibition of heavy metal pollution on mycorrhizal colonization and function: physiological, ecological and applied aspects. *Mycorrhiza*, 1997, 7: 139-153
- 12 Colpaert JV and Van Assche JA. Zinc toxicity in ectomycorrhizal *Pinus Sylvestris*. *Plant and Soil*, 1992, 143: 201~211.
- 13 Bargagli R and Baldi F. Mercury and methylmercury in higher fungi and their relation with sulphur in a Cinnabar mining area. *Chemosphere*, 1984, 13: 1059~1071
- 14 Gast CH, et al. Heavy metals in mushrooms and their relationships with soil characteristics. *Chemosphere*, 1988, 17: 789~799
- 15 Griffioen WAJ, et al. Mycorrhizal infection of *Agrostis capillaris* population on a Copper- contaminated soil. *Plant and Soil*, 1994, 158: 83~89
- 16 Gildon A and Tinker PB. Interaction of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and heavy metals in plants. *New Phytol.*, 1983, 95: 247~261
- 17 Del Val C, et al. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungus populations in heavy-metal- contaminated soils. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, 65(2): 718~723
- 18 刘润进, 李晓林. 丛枝菌根及其应用. 北京: 科学技术出版社, 2000, 106~111
- 19 Boyle M and Paul EA. Vesicular-arbuscular mycorrhizal associations with barley on sewage-amended plots. *Soil Biol. Biochem.*, 1988, 20: 945~948
- 20 Weissenhorn I, et al. Differential tolerance to Cd and Zn of arbuscular mycorrhizal (AM) fungal spores isolated from heavy metal-polluted and unpolluted soil. *Plant and Soil*, 1994, 167: 189~196
- 21 Weissenhorn I, et al. Cd-tolerant arbuscular-mycorrhizal (AM) fungi from heavy-metal polluted soil. *Plant and Soil*, 1993, 157: 247~256
- 22 Babich H and Stotzky G. Sensitivity of various bacteria, including actinomycetes and fungi to Cadmium and the

- influence of pH on sensitivity. Appl. Environ. Microbiol., 1977, 33: 681~695
- 23 Ross IS. Effect of Copper, Cadmium and Zinc on germination and mycelial growth in *Candida albicans*. Trans. Br. Mycol. Soc., 1982, 78: 543~545
- 24 Joner EJ and Leyval C. Uptake of ^{109}Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae*/*Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of Cadmium. New Phytol., 1997, 135: 353-360
- 25 王银波, 黄衍龙, 赵震庆. 重金属污染土壤 VA 菌根菌繁殖体数之季节性变化. 中国农业化学会志, 1995, 33 (4): 459~467
- 26 Baker AJM. Metal tolerance. New Phytol., 1987, 106: 93~111
- 27 Turnau K, Kottke I and Dexheimer J. Toxic element filtering in *Rhizopogon roseolus*/*Pinus sylvestris* mycorrhizas collected from calamine dumps. Mycol. Res., 1996, 100: 16~22
- 28 Mullen MD, et al. Sorption of heavy metals by the soil fungus *Aspergillus niger* and *Mucor rouxii*. Soil Biol. Biochem., 1992, 24: 129~135
- 29 Denny HJ and Wilkins DA. Zinc tolerance in *Betula* spp. New Phytol., 1987, 106: 545~553
- 30 Denny HJ and Ridge I. Fungal slime and its role in the mycorrhizal amelioration of Zinc toxicity to higher plants. New Phytol., 1995, 130: 251~257
- 31 黄艺, 陶澍, 陈有滥, 张学青. 外生菌根对欧洲赤松苗 (*Pinus sylvestris*) Cu, Zn 积累和分配的影响. 环境科学. 2000, 21(3): 1~6
- 32 Marschner P, et al. Cation exchange capacity and Lead sorption in ectomycorrhizal fungi. Plant and Soil, 1998, 205: 93~98
- 33 Galli U, et al. Heavy metal binding by myco-rrhizal fungi. Physiol. Plant., 1994, 92: 364~368
- 34 Turnau K, et al. Element distribution in *Pisolithus tinctorius* mycelium treated with Cadmium dust. Ann. Bot., 1994, 74: 137~142
- 35 Gruhn CM and Miller OKJR. Effect of Copper on tyrosinase activity and polyamine content of some ectomycorrhizal fungi. Mycorrhizal research, 1991, 95 (3): 268-272
- 36 Tyler G. Metals in sporophores of basidiomycetes. Trans. Br. Mycol. Soc., 1980, 74: 41~49
- 37 Bakken LR and Olsen RA. Accumulation of radiocesium in fungi. Can. J. Microbiol., 1990, 36: 704~710
- 38 Morselt AFM, et al. Histochemical demonstration of heavy metal tolerance in ectomycorrhizal fungi. Plant and Soil, 1986, 96:417~420
- 39 Cromack KJr, et al. Calcium oxalate accumulation and soil weathering in mats of the hypogeous fungus *Hysterangium crassum*. Soil Biol. Biochem., 1979, 11: 463~468
- 40 Vare H. Aluminium polyphosphate in the ectomycorrhizal fungus *Suillus variegatus* (Fr.) O. Kunze as revealed by energy dispersive spectrometry. New Phytol., 1990, 116: 663~668
- 41 Bradley R, et al. Mycorrhizal infection and resistance to heavy metal toxicity in *Calluna vulgaris*. Nature, 1981, 292: 335~337
- 42 Kothari SK, et al. Effect of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and rhizosphere micro-organisms on Manganese reduction in the rhizosphere and Manganese concentrations in maize (*Zea mays* L.). New Phytol., 1991, 117: 649~655
- 43 Azcon R. Germination and hyphal growth of *Glomus mosseae* in vitro: Effects of rhizosphere bacteria and cell-free culture media. Soil Biol. Biochem., 1987, 4: 417
- 44 Colpaert JV and Van Assche JA. The effects of cadmium on ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* L. New Phytol., 1993, 123: 325~333
- 45 Joner EJ, et al. Metal binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. In: *arbuscular mycorrhizas and plant health under abiotic stress*. Nancy France. 1999, 6
- 46 Leyval C, et al. Occurrence and infectivity of arbuscular mycorrhizal fungi in some Norwegian soils influenced by heavy metals and soil properties. Water Air Soil Pollut., 1995, 84: 203~216
- 47 Kothari SK, et al. Contribution of the VAM hyphae in acquisition of phosphorus and zinc by maize grown in a calcareous soil. Plant and Soil., 1991, 131: 177~185

TOLERANCE OF MYCORRHIZAL FUNGI TO HEAVY METALS AND MECHANISMS

Liao Jipei Lin Xiangui Cao Zhihong

(*Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008*)

Abstract Pollution of the biosphere with heavy metals poses a major environmental and human health problem. Phytoremediation methods (including phytoextraction, rhizofiltration and phytostabilization) have recently attracted much attention. Mycorrhizal infection exists in most heavy-metal-polluted environment, suggesting that heavy metal tolerance or other beneficial effects are conferred by the mycorrhizal symbiosis. Mycorrhizae can bind metals and limit their translocation to shoot, and provide a new way for phytostabilization and protect plants against the toxicity of heavy metals. Ectomycorrhizal and endomycorrhizal fungi can accumulate high metal contents in their fruiting bodies, and that metal accumulation varies between species and strains. Mycorrhizal fungi tolerate the toxicity of heavy metals by ion exchange, formation of complexes, precipitation or crystallization. Heavy metals content in the fruitbodies of mycorrhizal fungi, propagule density and infectivity can be used as bioindicators of soil contamination.

Key words Ectomycorrhizal fungus, Endomycorrhizal fungus, Heavy metal, Tolerance

《土壤》期刊征订

《土壤》杂志是我国土壤科学领域最具权威性的专业期刊之一，是中国自然科学核心期刊，已被《中国期刊网》、《中国学术期刊（光盘版）》全文收录，被认定为《中国学术期刊综合评价数据库》、《中国科学引文数据库》来源期刊。

《土壤》办刊宗旨：以科学的态度，求实的精神，严谨的作风，传播土壤科学最新研究成果，交流改土培肥经验，普及土壤科学知识，提倡百家争鸣，活跃学术思想，繁荣我国土壤科学事业，促进农业生产，服务于国民经济建设。

《土壤》自 1958 年创刊以来，在选题上紧密结合国民经济建设、改革开放的发展形势，以能及时反映国内外土壤科学发展的最新动向为目的，刊载土壤科学方面的学术论文、试验研究报告、文献综述、简报、科研和生产实践中的新技术、新方法、国内外考察报告等。

《土壤》杂志从 2003 年改版，双月刊，大 16 开本，双栏排版，112 页（从 2004 年第 1 期起），彩色封面，双月 25 日出版。

新版《土壤》杂志以能最大限度为作者、读者提供服务为宗旨，注重新思想、新理论、新技术方法的探讨，注重对实际应用的指导。有深度、广度；严肃、严谨、流畅、活泼；形成独特的风格，成为深受广大作者、读者欢迎的期刊。

《土壤》期刊的邮发代号：28-21，每期定价 10 元，全年定价 60 元。全国各地邮局均可订阅，也可随时直接向《土壤》编辑部订阅。

地址：江苏南京市北京东路 71 号，中国科学院南京土壤研究所《土壤》编辑部，邮政编码：210008，电话和传真：025-6881236，电子邮箱：soils@mail.issas.ac.cn 或 tr@mail.periodicals.net.cn。

欢印订阅、投稿和刊登综合信息。