

The logo of Zhejiang University, featuring a stylized eagle or bird emblem in the center, surrounded by the university's name in Chinese characters (浙江大学) and English (ZHEJIANG UNIVERSITY), with the year 1897 at the bottom.

指导老师 胡亮亮

浙江大学实验报告

专业: 生物科学
姓名: —
学号: —
日期: December 14, 2024
地点: 生物实验中心 312

课程名称: 生态学基础及实验 指导老师: 胡亮亮 实验类型: 测定实验
实验名称: 丛枝菌根真菌侵染的测定 成绩: 签名:

一、实验目的

1. 掌握丛枝菌根真菌侵染率的测定方法
2. 了解不同宿主植物中丛枝菌根真菌侵染状况的差异

二、背景知识及实验原理

1. 菌根共生 (Mycorrhizal Associations)

植物根系与真菌之间的共生关系, 植物为真菌提供光合作用衍生的碳水化合物和脂肪, 真菌为植物提供必需的营养物质和水。主要有丛枝菌根 (AM, 72% 的陆地植物物种中存在)、兰科菌根 (OR, 10% 的植物物种中存在)、外生菌根 (ECM, 2% 的植物物种中存在) 和杜鹃花类菌根 (ERM, 1.5% 的植物物种中存在) 这几大类。仅有少数植物不形成菌根共生, 如景天科、列当科、十字花科、山龙眼科等。

2. 丛枝菌根真菌

丛枝菌根真菌侵染植物根细胞后, 其菌丝在细胞内形成特殊的树状结构, 成为丛枝 (Arbuscule)。丛枝是植物和丛枝菌根真菌之间进行营养交换的主要结构, 命名也由此而来。丛枝菌根还具有泡囊 (Vesicle)、菌丝 (Hyphae)、孢子 (Spore) 等结构。

3. 丛枝菌根与植物的相互作用

菌根真菌菌丝体既向根周土壤扩展, 又与宿主植物组织相通, 菌丝网络拓展了根表面积和吸收范围, 加大植物对养分和水分的吸收, 帮助宿主植物抵御不良的环境条件 (例如低肥力、干旱、盐胁迫和重金属环境), 如 Fig. 1 所示。

宿主植物分配大量的植物光合作用产物来支持丛枝菌根真菌的生长。宿主植物优先分配碳源给表现最好的 AMF; 相互奖励机制, 宿主植物能够检测、分辨及奖励表现最好的 AMF; 对效率低下甚至寄生的 AMF, 通过丛枝先期成熟死亡机制进行抑制。

丛枝菌根还会拓展植物根的资源获取策略, 菌根协助型的资源获取方式, 会改变植物的根密度、根含 N 量、比根长、根直径、根中皮层占比等性状。

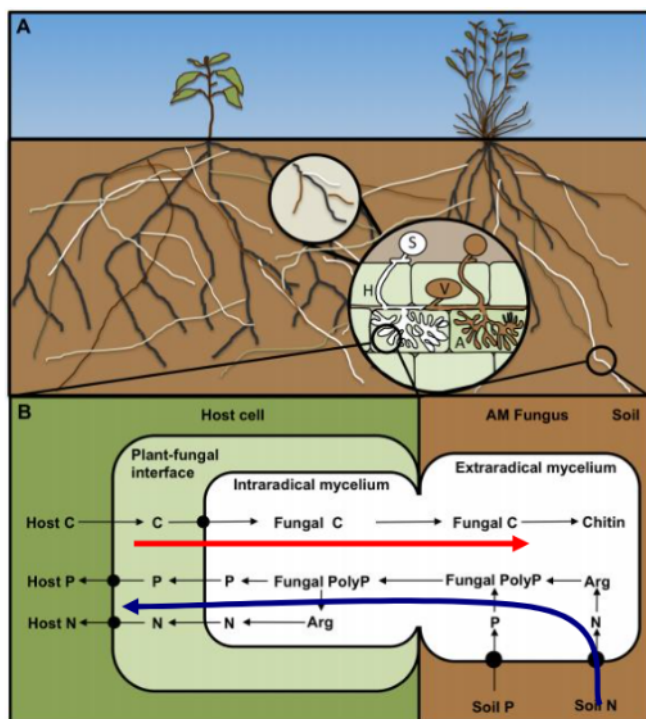


Fig. 1: 丛枝菌根与植物的相互作用

三、 实验设备与材料

1. 实验设备

- 量筒、天平、玻璃棒
- 水浴锅、剪刀、镊子、50mL 离心管、烧杯
- 显微镜、载玻片、盖玻片

2. 实验材料

- 氢氧化钾、盐酸、酸性品红、乳酸、丙三醇

四、 实验步骤

1. 根的采集和保存

- 采集 3-4 种不同类型的植物，每种植物取三株个体，将其根部完整挖出
- 用自来水冲洗干净后放入信封，60°C 烘干保存

2. 根的解离

- 10%KOH 溶液浸泡，70°C 水浴 4-5 分钟，过程中不断用玻璃棒搅拌，根段散开后，停止水浴
- 用自来水冲洗根段 3 次，加入 3% 盐酸，浸没根段，用玻璃棒不断搅拌约 4 分钟至根洗成白色，倒去盐酸并用自来水冲洗至少 3 次至无盐酸残留

3. 根的染色

- a 配置染色液 1L: 63mL 水, 63mL 丙三醇, 0.1g 酸性品红, 874mL 乳酸
- b 将根浸没在染色液中, 染色 30 分钟

4. 根段的侵染率测定

- a 将根剪成 1cm 的根段, 放于载玻片上, 用盖玻片压实, 放于显微镜下观察 (10 倍物镜)
- b 根段如具菌根, 则记为 “有”, 否则为 “无”
- c 每个物种观察 30 各根段, 得出丛枝菌根侵染率

5. AMF 结构的观测

记录每个根段上是否能观察到丛枝结构和泡囊结构, 计算两者比例: 丛枝率 (%) = $\frac{Y}{X} \times 100\%$, 泡囊率 (%) = $\frac{Z}{X} \times 100\%$ (其中 X 为具有菌根的载玻片数量, Y 为具有丛枝结构的载玻片数量, Z 为具有泡囊结构的载玻片数量)

五、 实验结果及数据分析

1. 宿主植物基本状况

宿主植物的种类和生长状况见 Tab.1, 生境照片见 Fig.2.

Tab. 1: 植物生长状况

植物名称	构树	酢浆草	西伯利亚鸢尾花	积雪草
目	蔷薇目	酢浆草目	百合目	伞形目
科	桑科	酢浆草科	鸢尾花科	伞形科
属	构属	酢浆草属	鸢尾花属	积雪草属
拉丁名	Broussonetia papyrifera (L.) L'Hér. ex Vent.	Oxalis corniculata	Iris sibirica	Centella asiatica (L.) Urban
生活型	乔木	多年生草本	多年生草本	多年生草本
主要特征	小树之叶常有明显分裂, 表面粗糙, 背面密被绒毛	全株被柔毛, 根茎稍肥厚, 直立或匍匐, 匍匐茎节上生根	根状茎粗壮, 斜伸; 须根黄白色, 绳索状, 有皱缩的横纹, 叶灰绿色, 条形	茎匍匐, 细长, 弯曲, 节上长着生须状根或明显根残痕, 叶片膜质至草质, 圆形、肾形或马蹄形
生境	实验中心附近树林	实验中心附近林下	实验中心附近林下花圃	实验中心附近林下



Fig. 2: 植物生长情况及生境 (a. 积雪草; b. 酢浆草; c. 构树; d. 西伯利亚鸢尾; e. 生境总体情况)

2. 丛枝菌根典型结构

本次实验在酢浆草、西伯利亚鸢尾花、积雪草中发现典型的菌丝结构 (见 **Fig.3**), 并在西伯利亚鸢尾花中发现疑似泡囊的结构 (见 **Fig.4**). 构树根系样本中没有发现任何丛枝菌根。

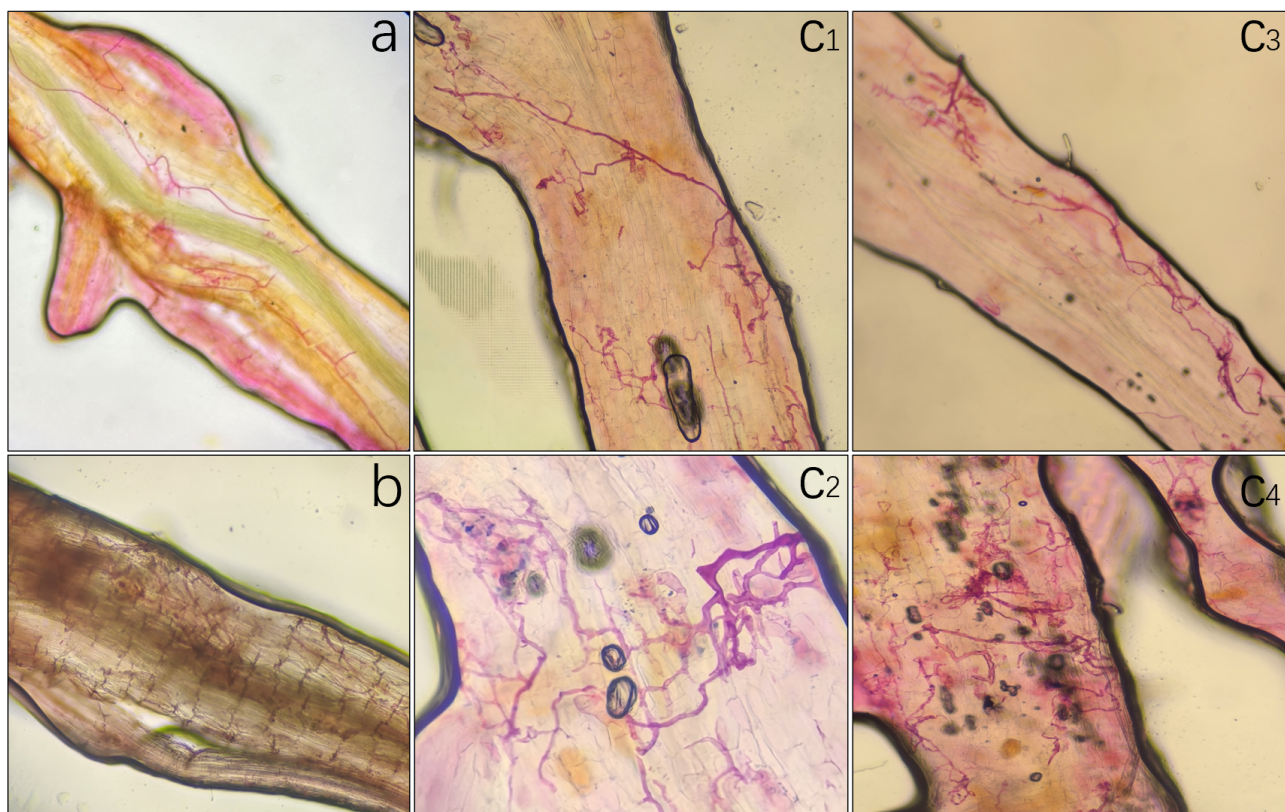


Fig. 3: 菌丝结构 (a. 积雪草; b. 酢浆草; c1-c4. 西伯利亚鸢尾花)

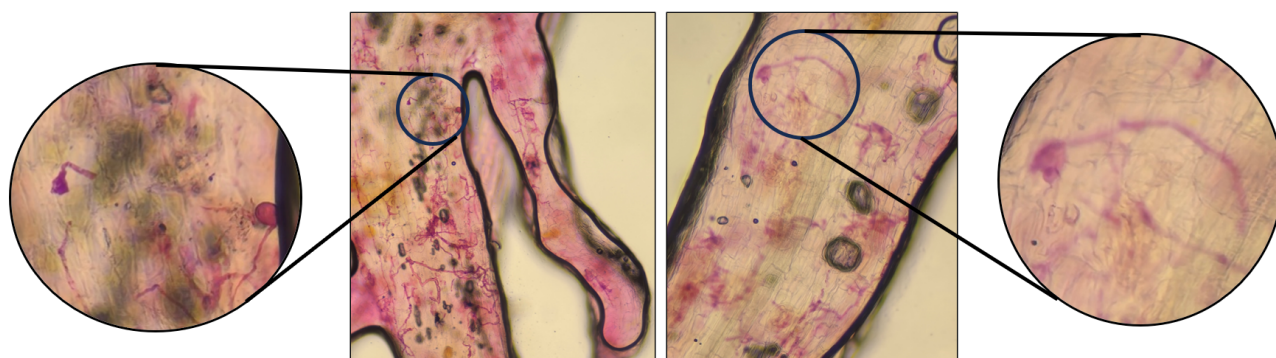


Fig. 4: 西伯利亚鸢尾花中发现的泡囊结构

3. 各宿主植物根系侵染率、丛枝率、泡囊率与差异分析

各宿主植物根系侵染率、丛枝率、泡囊率计算结果见下表 (Tab.2). 总取样量均为 30.

从表中数据可以看出，西伯利亚鸢尾与菌根真菌共生的现象最为普遍，侵染率达到了 90%，且可见少量泡囊和丛枝结构。从显微镜照片可以看出，侵染西伯利亚鸢尾根部的菌丝长度较长、分支结构复杂完整，相较于其他几种植物根部的菌丝，发育状况最好。其次是酢浆草，侵染率达到了 63.33%，最后是积雪草，侵染率约为 46.67%。但是这两种植物中几乎没有发现丛枝、泡囊的结构。而在构树幼苗的根部，我们没有发现任何丛枝菌根侵染的痕迹。

Tab. 2: 各植物根系侵染率、丛枝率、泡囊率

植物名称	科	侵染率/%	丛枝率/%	泡囊率/%
积雪草	伞形科	36.67	0.00	0.00
酢浆草	酢浆草科	63.33	0.00	3.33
构树（幼苗）	桑科	0.00	0.00	0.00
西伯利亚鸢尾	鸢尾科	90.00	3.33	6.67

4. 菌根共生情况与植物根系性状之间的关系

利用附录中 Tab.3的数据，绘制如 Fig.5所示的热图。由上端聚类树可以发现，每个物种内的三个样本，通过各个根性状及菌根真菌侵染率聚类，均可以聚成一类，证明就样本间差异而言，取样是相对合理的。

再观察各性状之间的关系，不难发现菌根真菌侵染率与根冠比、根直径存在一定的负相关关系，与比根长存在一定正相关关系。比根长是指单位生物量植物根系的长度之和，比根长越大，表明植物根系的直径越细（故比根长与根直径存在负相关关系，由图可以验证）。根系直径越细，单位生物量根系的表面积越大，与土壤进行营养交换的面积就越大，一方面根系可以从土壤中吸收更多的水分与养分，另一方面，根系分泌物也可以较均匀地分泌至土壤中。由此推测，丛枝菌根真菌侵染植物，从植物根系中获取营养物质的行为，可能促使植物从土壤中吸收更多的养分，因为植物不仅要供给自身生长发育，还要分配一部分的营养物质供给真菌。

从本次实验获得的数据来看，丛枝菌根的侵染率与根密度并没有显著的相关性，但可能是采样量过少导致。再者，本实验中所取的构树与西伯利亚鸢尾花都有可能会影响实验结果的特征：如构树的根系木质部较多，质地坚硬，颜色较深，在显微镜下较难观察到清晰的结构，同时根系非常庞大，取样时无法完整获得，这会影响各个根性状的测量与计算；又如西伯利亚鸢尾花的地下球茎，可能起到了一部分根的作用，使得其真正的根部较为特殊。这些特征都可能会让实验结果出现较大的偏差甚至与文献报道结果相背离。如果需要更精确更科学地探讨植物根性状与丛枝菌根侵染之间的关系，还需要大量的采样、优化数据测量与分析手段。

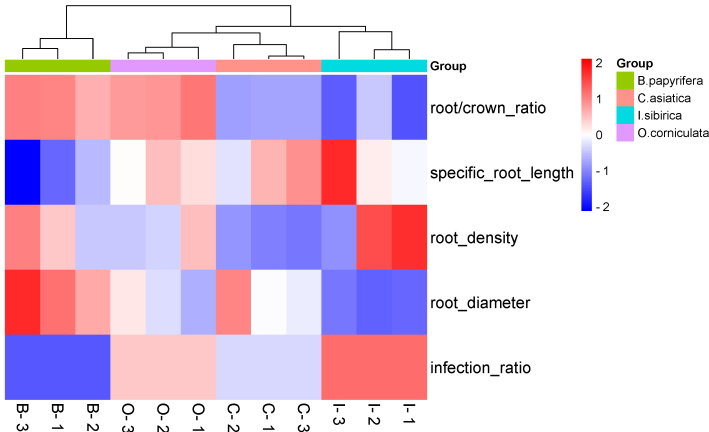


Fig. 5: 分析热图

六、 附录

根性状原始数据见下表（*Tab.3*）.

Tab. 3: 根性状原始数据

Species	B.papyrifera			O.corniculata		
sample	B-1	B-2	B-3	O-1	O-2	O-3
upground_mass	1.17	0.92	2.43	0.0489	0.1758	0.1425
underground_mass	1.31	0.68	2.8	0.0636	0.1699	0.1274
root/crown_ratio	1.120	0.739	1.152	1.301	0.966	0.894
specific_root_length	1390.560	3166.718	492.272	8557.123	11609.470	6533.689
root_density	0.000236	0.000108	0.000403	0.000254	0.000117	0.000106
root_diameter	1.51	1.206	2.007	0.62	0.746	0.946
infection_ratio	0	0	0	63.33	63.33	63.33

Species	I.sibirica			C.asiatica		
sample	I-1	I-2	I-3	C-1	C-2	C-3
upground_mass	0.4478	0.1892	0.2689	0.7378	0.6444	0.2639
underground_mass	0.023	0.0343	0.0155	0.0893	0.0734	0.0319
root/crown_ratio	0.051	0.181	0.058	0.121	0.113904	0.120879
specific_root_length	5683.304	7546.064	50285.871	13344.323	4636.798	18255.580
root_density	0.000766	0.000610	0.000071	0.000062	0.000073	0.000057
root_diameter	0.467	0.455	0.494	0.853	1.406	0.794
infection_ratio	90	90	90	36.67	36.67	36.67