

浙江大学实验报告

课程名称: 生态学基础及实验
实验名称: 植物-丛枝菌根真菌共生的观测

指导老师: 胡亮亮
成 绩:

专业: 生物科学
姓名: 蒋贤迪
学号: 3240105782
日期: 2025.12.3
地点: 生物实验中心-312

一、 实验目的和要求

1. 实验目的

- 了解菌根共生的概念及其生态意义
- 掌握丛枝菌根真菌侵染率的测定方法

2. 实验要求

- (1) 描述宿主植物种类、生长状况（可用照片反应）和生境（采样地点描述）；
- (2) 拍摄记录典型的菌丝、丛枝和泡囊结构；
- (3) 计算不同宿主植物根系侵染率、丛枝率和泡囊率；
- (4) 比较分析不同物种之间植物-菌根真菌共生状况的差异；
- (5) 探讨菌根共生关系与植物根系性状的关系。
- (6) 地上部和地下部均称重，计算以下指标：
 1. 根冠比 = 地下部/地上部
 2. 比根长 = 根长/根重
 3. 根密度 = 根重/根体积
 4. 根直径，细根长度占比等

二、 实验内容和原理

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质，真菌为植物提供必需的营养物质和水。且少数植物不形成菌根共生，如图2所示。

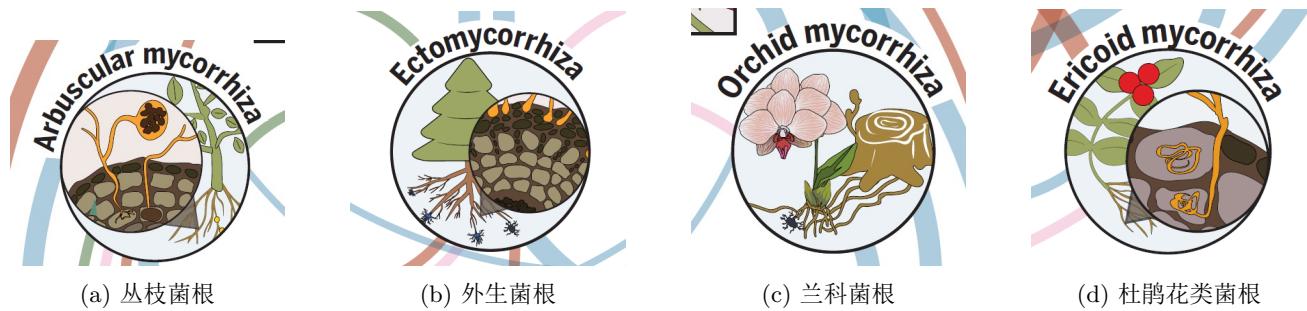


Figure 1: 四种主要的菌根类型



Figure 2: 少数不形成菌根共生的植物科属

线
订
装

2. 丛枝菌根真菌 (arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)

- 丛枝菌根真菌侵染植物根细胞后，其菌丝细胞内形成特殊的树状结构，称为丛枝 (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，丛枝菌根真菌的命名也由此而来。

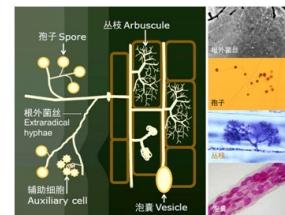


Figure 3: 丛枝菌根真菌结构示意图

3. AMF 和植物的相互作用

- 菌根真菌的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）。
- 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。

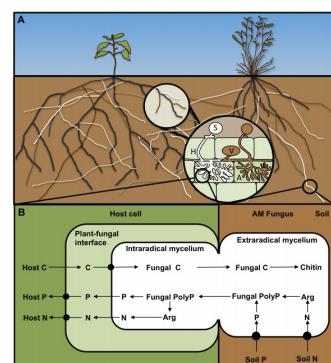


Figure 4: AMF 和植物相互作用示意图

4. 根系经济学空间理论框架分析

图 5 展示了植物根系策略的两个核心权衡维度：

1. 合作梯度 (横轴): 根系自助型 vs. 菌根协助型

- **根系自助型 (左):** 依靠高比根长 (SRL)。植物构建大量细长根系，“亲力亲为”探索土壤获取养分。
- **菌根协助型 (右):** 依靠粗根 (D) 和发达皮层 (CF)。植物保留粗根作为真菌栖息地，将碳源“外包”，利用菌丝获取养分。
- 规律: SRL 与根直径/皮层占比呈负相关 (深蓝色箭头)。

2. 保守梯度 (纵轴): 资源保守型 vs. 资源获取型

- **资源保守型 (上):** 特征是高组织密度 (RTD)。根系寿命长、防御力强，适应贫瘠环境，回报慢但持久。
- **资源获取型 (下):** 特征是高氮含量 (N)。根系代谢快、寿命短，能快速周转获取资源。
- 规律: RTD 与氮含量呈负相关 (灰色箭头)。

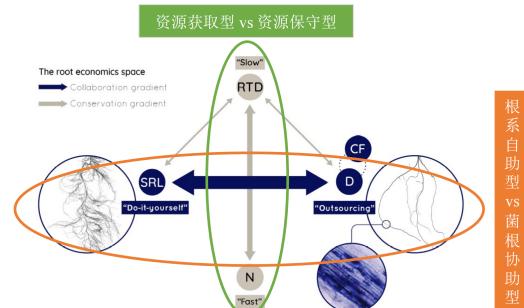


Figure 5: 根系经济学空间概念框架图

三、 实验材料与设备

- 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
- 氢氧化钾、盐酸、酸性品红、乳酸、丙三醇

四、 操作方法和实验步骤

1. 根的采集和保存

每个小组采集 3-4 种不同类型草本植物（禾本科、菊科、十字花科）。每种植物取 3 棵植株，将其根部完整挖出（注意细根的完整性），用自来水清洗干净后放入信封，60°C 烘干保存。

2. 根的解离

使用 10% 氢氧化钾溶液 (100g KOH 溶于 1L 水) 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（30ml 盐酸溶于 1L 水）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

配置染色液 1L (63ml 水, 63ml 丙三醇, 0.1g 酸性品红, 874ml 乳酸)，令根染色 30 分钟。

4. 根段的侵染率的测定

将根剪成 1cm 的根段，放于载玻片上，用盖玻片将根段压实，进行显微镜观察（10 倍物镜）。

根段如可看到菌根，则记为“有”，反之则“无”。每个物种观察 30 个根段，得出丛枝菌根真菌侵染率：

$$\text{侵染率}(\%) = \frac{X}{30} \times 100 \quad (1)$$

其中， X 为具有菌根的载玻片数。

线
订
装

5. AMF 结构的观测

记录每个根段上是否能够观察到丛枝结构和泡囊结构，计算两者的比例：

$$\text{丛枝率}(\%) = \frac{Y}{X} \times 100 \quad (2)$$

其中， Y 为具有丛枝结构的载玻片数， X 为具有菌根的载玻片数。

$$\text{泡囊率}(\%) = \frac{Z}{X} \times 100 \quad (3)$$

其中， Z 为具有泡囊结构的载玻片数， X

注意事项

- 根段要选取未木质化的细根
- **水浴时间决定了根的解离程度。**若水浴时间太长，解离过于彻底，会导致上色太深；若水浴时间太短，解离程度低，上色太浅。均不利于区别 AMF 和根的结构。
- **盐酸处理时间不可太短**，否则会造成根色偏黄，影响观察。

五、实验数据记录和处理

1. 宿主植物种类、生长状况和生境

本实验选取了三种具有代表性的草本及木本植物作为宿主，分别为合欢（木本）、香堇菜（草本）和香附子（草本）。其详细分类地位、生境及生长状态描述如表 1 所示。

Table 1: 宿主植物基本信息及采样生境

植物名称	拉丁学名	科	采样生境	生长状态描述
合欢	<i>Albizia julibrissin</i>	豆科	生物实验中心南侧树林	落叶乔木（本实验取幼苗）；二回羽状复叶，小叶昼开夜合。
香堇菜	<i>Viola odorata</i>	堇菜科	生物实验中心南侧树林	多年生草本，具匍匐茎；根状茎较粗；叶基生，圆形或宽卵状心形。
香附子	<i>Cyperus rotundus</i>	莎草科	生物实验中心西南侧草地	多年生草本，具细长匍匐根状茎和黑褐色块茎；秆锐三棱形，叶基生。

植物采样地点的生境状况如图 6 所示。



Figure 6: 植物采样生境照片

2. 拍照记录

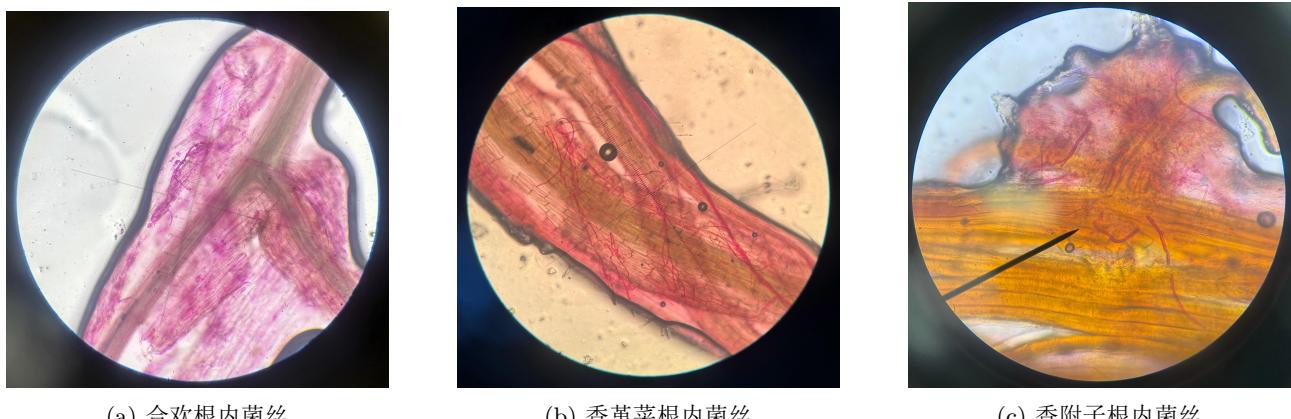


Figure 7: 三种植物根系中观察到的 AMF 菌丝形态显微照片

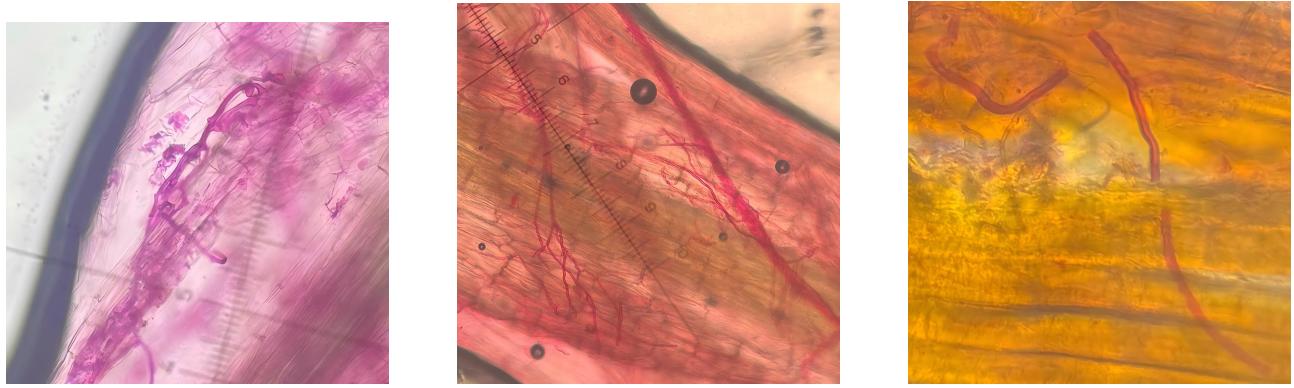


Figure 8: 三种植物根系 AMF 菌丝结构的局部放大观察

3. 实验数据记录与计算

经观察，三种植物根系菌根侵染结构数据如表2所示。其中，X= 有无侵染，Y= 有无从枝，Z= 有无泡囊；1 代表有，0 代表无。

Table 2: 三种植物根系菌根侵染结构观察数据（折叠版）

合欢				香堇菜				香附子			
No.	X	Y	Z	No.	X	Y	Z	No.	X	Y	Z
1	1	0	0	16	0	0	0	1	1	0	0
2	1	0	0	17	1	0	0	2	1	0	0
3	0	0	0	18	0	0	0	3	1	0	0
4	0	0	0	19	0	0	0	4	1	0	0
5	1	0	0	20	1	0	0	5	1	0	0
6	1	0	0	21	1	0	0	6	0	0	0
7	1	0	0	22	0	0	0	7	0	0	0
8	1	0	0	23	0	0	0	8	0	0	0
9	1	0	0	24	1	0	0	9	1	0	0
10	0	0	0	25	1	0	0	10	1	0	0
11	0	0	0	26	0	0	0	11	0	0	0
12	0	0	0	27	0	0	0	12	1	0	0
13	0	0	0	28	1	0	0	13	1	0	0
14	0	0	0	29	0	0	0	14	0	0	0
15	0	0	0	30	0	0	0	15	1	0	0

根据实验原理中的式 1 ~ 3 可知各指标的计算方法。

侵染率计算（以合欢为例） 查原始记录表 2 可知，合欢的观察总根段数为 30，其中有侵染的根段数 $X = 13$ 。代入式 1 计算得：

$$\text{合欢侵染率} = \frac{13}{30} \times 100 \approx 43.33\%$$

同理计算其他物种：

- 香堇菜 ($X = 22$): 侵染率 $\approx 73.33\%$
- 香附子 ($X = 19$): 侵染率 $\approx 63.33\%$

丛枝率与泡囊率 在本实验的显微观察中，三种植物的所有根段均未发现丛枝结构 ($Y = 0$) 和泡囊结构 ($Z = 0$)。

根据式 2 和式 3 可知：

$$\text{丛枝率} = \frac{0}{X} \times 100 = 0\% ; \quad \text{泡囊率} = \frac{0}{X} \times 100 = 0\%$$

三种植物根系的各项指标统计结果如表 3 所示。

Table 3: 三种植物根系 AMF 侵染情况统计汇总

物种	观察根段数 (N)	侵染根段数 (X)	侵染率 (%)	丛枝率 (%)	泡囊率 (%)
合欢	30	13	43.33	0	0
香堇菜	30	22	73.33	0	0
香附子	30	19	63.33	0	0

其他指标 同时，经过地上部分和地下部分的称重后，得到表 4，如下所示：

Table 4: 三种宿主植物地上部与地下部生物量记录表

植物名称	编号	地下部干重 (g)	地上部干重 (g)
香堇菜	1	0.2445	1.1115
	2	0.1247	0.8201
	3	0.0535	0.2992
香附子	1	0.1603	0.5501
	2	0.0293	0.3228
	3	0.1899	0.8012
合欢	1	0.9207	0.3039
	2	0.0870	0.0115
	3	0.0178	0.0196

根据上表和“植物根系分析”实验中所得的表 8、7 可以计算得出每一个物种根冠比、比根长、根组织密度及平均根直径等指标，取平均后结果如表 5 所示。其原始数据见附录表 6。

Table 5: 三种宿主植物的生物量及根系功能性状指标 (Mean \pm SE)

植物名称	地上部干重 (g)	地下部干重 (g)	根冠比 (R/S)	比根长 (SRL) (m/g)	根组织密度 (RTD) (g/cm ³)	平均根直径 (mm)
香堇菜	0.74 \pm 0.24	0.14 \pm 0.06	0.18 \pm 0.02	15.14 \pm 5.27	0.07 \pm 0.01	0.68 \pm 0.07
香附子	0.56 \pm 0.14	0.13 \pm 0.05	0.21 \pm 0.06	46.71 \pm 28.68	0.02 \pm 0.01	0.91 \pm 0.02
合欢	0.11 \pm 0.10	0.34 \pm 0.29	3.83 \pm 1.96	29.35 \pm 18.57	0.26 \pm 0.11	0.52 \pm 0.20

用 python 绘制根系功能特性的箱线图，如图 9 所示。

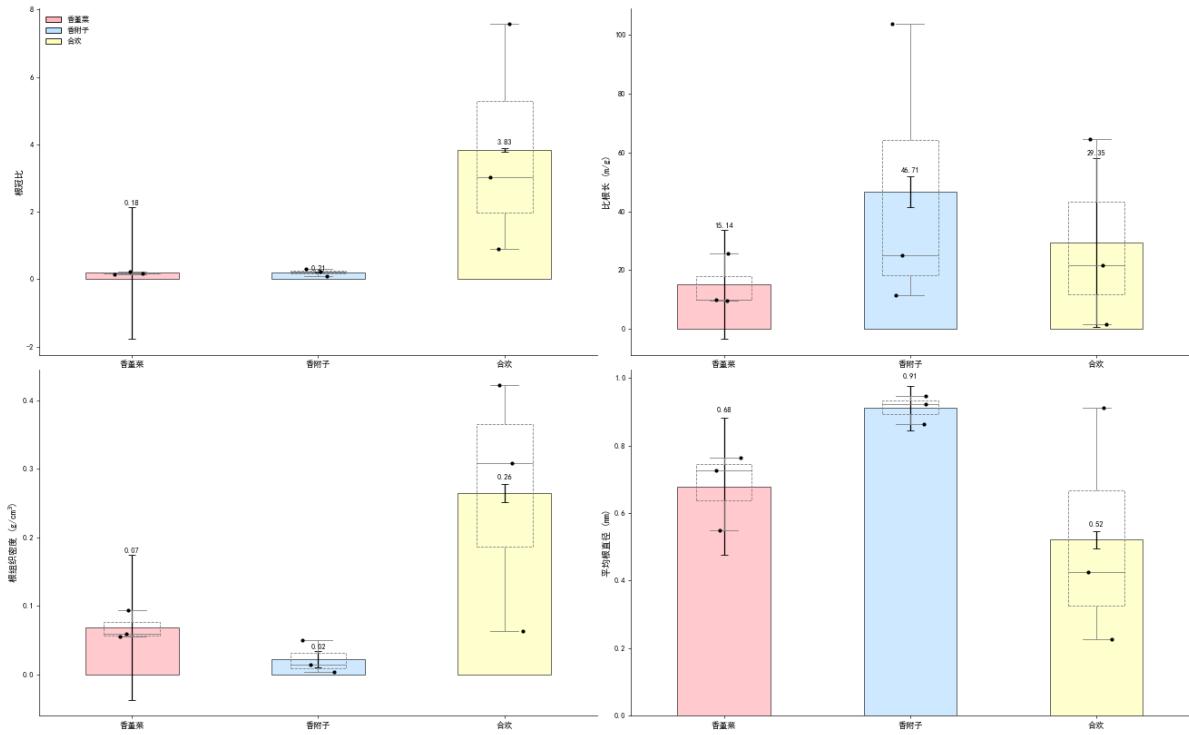


Figure 9: 三种宿主植物根系功能性状箱线图

订
装
线

4. 比较分析不同物种之间植物-菌根真菌共生状况的差异

(1) 统计分析方法

利用 R 语言对实验数据进行统计分析。采用 Pearson 卡方检验 (Chi-square test) 分析不同物种间侵染率的整体差异，并计算了侵染率的标准误 (SE) 及 95% 置信区间 (CI)。显著性水平设为 $\alpha = 0.05$ 。由于丛枝率和泡囊率均为 0，故未进行相关统计分析。

(2) 结果与分析

统计检验结果表明，尽管三种宿主植物的 AMF 侵染率在数值上存在差异（香堇菜 73.33% > 香附子 63.33% > 合欢 43.33%），但整体差异未达到统计学显著水平 ($\chi^2 = 5.83, P = 0.054 > 0.05$)。

如图 10 所示：

- 数值趋势：**草本植物（香堇菜、香附子）的平均侵染率在数值上高于木本植物（合欢）。这符合一般生态学认知，即草本植物可能更依赖菌根进行养分吸收。
- 统计显著性：**图中三种植物均标记为字母 “a”，表明它们之间不存在显著差异 ($P > 0.05$, Bonferroni test)。这可能是由于本实验的样本量相对较小 ($n = 30$)，导致统计功效不足以检测出潜在的显著差异。若增加样本量，合欢与香堇菜之间的差异 ($P=0.11$) 可能会变得显著。

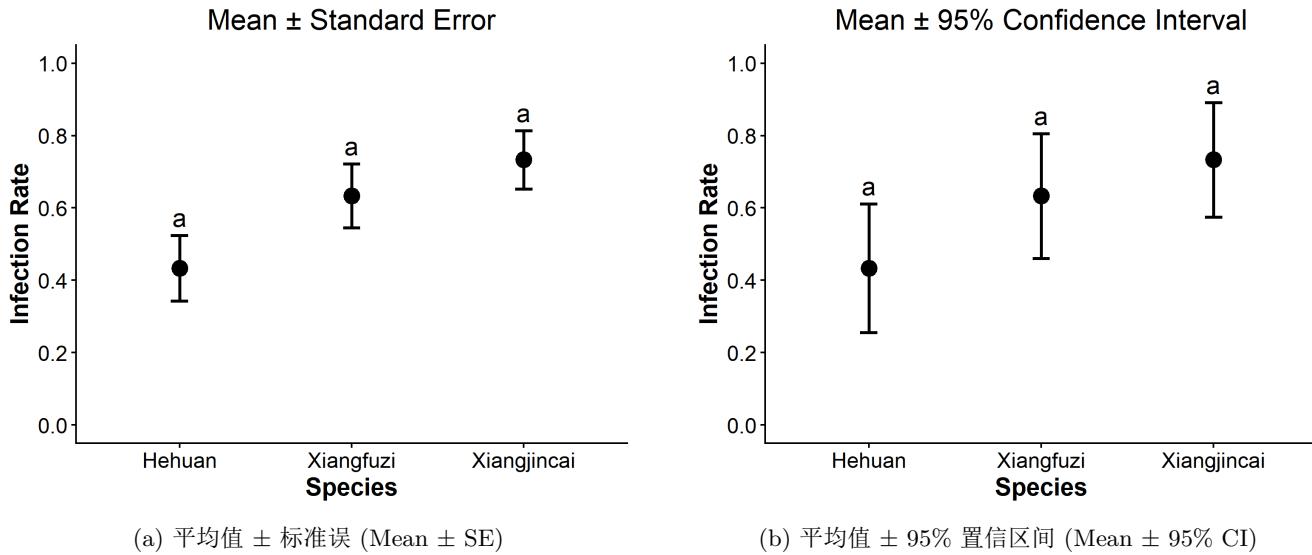


Figure 10: 三种宿主植物根系 AMF 侵染率的统计比较。

5. 探讨菌根共生关系与植物根系性状的关系

为了验证植物根系是否存在“资源获取策略”的权衡，我们对测得的根系功能性状（比根长 SRL、根组织密度 RTD、平均直径、根冠比）与菌根侵染率进行了多维统计分析。结合前文图 5 所述的根系经济学空间 (Root Economics Space) 理论，我们对结果进行了如下深入解读。

相关性分析：核心权衡维度的验证

利用 Pearson 相关系数构建的热图（图 11a）量化了各性状间的关联强度，揭示了以下核心规律：

- (1) **侵染率与根直径呈正相关 ($r = 0.38$)**: 尽管相关系数绝对值不大，但正相关趋势符合预期。根系平均直径较粗的植物（如香堇菜）倾向于拥有较高的菌根侵染率。根据图 5 的合作梯度理论，粗根的比表面积较小，直接吸收效率受限，因此植物倾向于保留皮层空间供真菌定殖，采取“菌根协助型”策略，利用菌丝网络扩展养分吸收范围。
- (2) **侵染率与根冠比呈负相关 ($r = -0.69$)**: 这是本次分析中负相关性最显著的一组关系。根冠比反映了植物向地下部投入生物量的比例。数据显示，根冠比越高的植物（如合欢），其菌根侵染率反而越低。这暗示了一种资源分配的权衡：当植物投入大量碳源构建庞大的自身根系生物量时，可能会削减对共生真菌的碳回报，从而抑制了菌根的形成。
- (3) **侵染率与根组织密度 (RTD) 呈负相关 ($r = -0.67$)**: 高 RTD 代表根系构建成本高、寿命长，属于典型的“资源保守型”策略（见图 5 纵轴）。我们的数据表明，采取高 RTD 策略的植物（如合欢）与菌根真菌的活跃交换较少。这可能是因为长寿命的保守型根系防御能力强，皮层细胞周转慢，不利于需要频繁更新的丛枝结构 (Arbuscule) 的维持。
- (4) **比根长 (SRL) 的独立性 ($r = -0.11$)**: 值得注意的是，在本实验中，侵染率与比根长的相关性极弱。这表明在所选物种中，“根系自助型”（依靠高 SRL）策略与菌根侵染并没有表现出简单的线性替代关系，可能受到物种特异性发育阶段（如合欢幼苗）的干扰。

PCA 分析：物种策略的多维分化

主成分分析（PCA）进一步在多维空间中揭示了不同物种的生存策略分化（图 11b）。第一主成分 (PC1) 解释了 59.5% 的变异，主要代表了“根系构建成本”维度；第二主成分 (PC2) 解释了 22.6% 的变异，主要由比根长驱动。

- 向量几何关系的生态学解读：

- 协同关系：**红色箭头显示，“侵染率”与“平均直径”的向量方向位于同一象限且夹角较小 ($< 90^\circ$)，再次印证了“菌根协助型”策略往往伴随着粗根表型。
- 权衡关系：**“侵染率”向量与“根冠比”、“根组织密度”向量的方向几乎相反（夹角接近 180° ）。这强有力地证明了植物在“投资真菌”与“投资自身生物量/组织密度”之间存在显著的权衡。
- 独立关系：**“比根长”向量几乎垂直于“侵染率”向量（夹角接近 90° ），说明在本研究体系中，根系的粗细变化 (SRL) 是一个相对独立的变异维度，不直接受控于菌根共生状态。

- 物种的策略定位：

- 合欢 (右侧群)：**主要分布在 PC1 正轴方向，特征是较高的根冠比和根组织密度，但侵染率和直径较低。这表明合欢幼苗采取了极端的“资源保守型”策略，优先投资于构建高密度的持久性根系和地下生物量，而非依赖菌根。
- 香堇菜与香附子 (左侧群)：**两者在 PC1 轴上的分布较为接近，均位于负轴区域，表现出较高的侵染率和平均直径。这说明作为草本植物，它们更倾向于“菌根协助型”策略，通过较低的组织密度和较粗的根系来维持与真菌的高效共生，以快速获取养分。
- 香附子-2 (疑似异常样本)：**虽然与香附子-2 在 PC1 轴上和其他香附子样本和香堇菜样本相似，但在 PC2 轴 (比根长) 上分布更广，这可能是因为小组在采取样本时弄断了一些地下部分的根，导致其质量 (0.0293g) 显著低于其他两个样本，为该实验引入了异常的样本，造成了较大的误差。

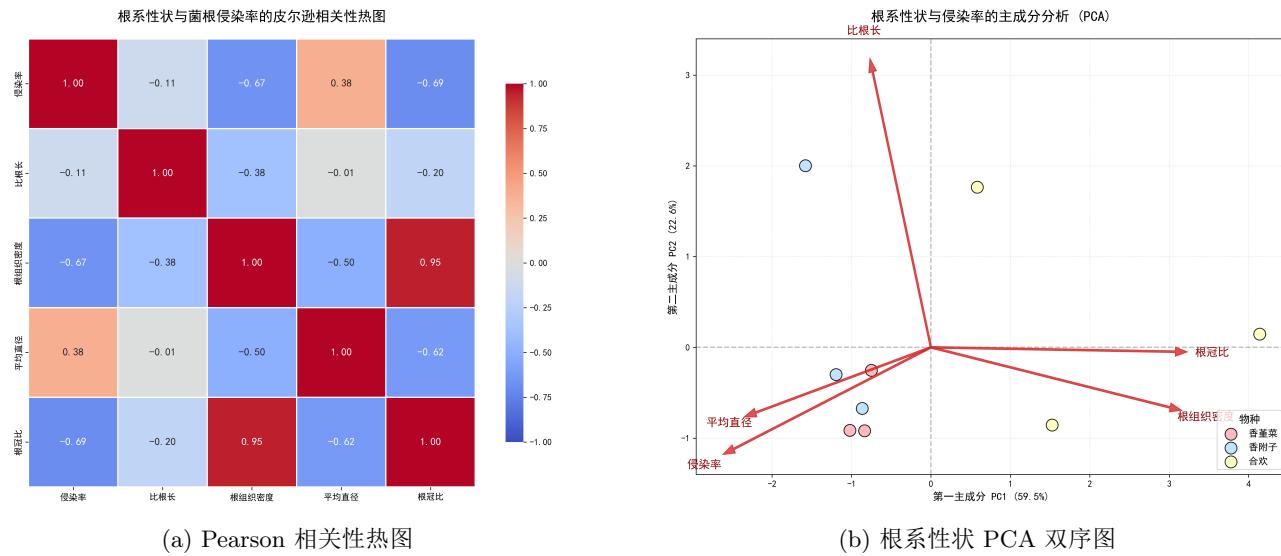


Figure 11: 植物根系性状与菌根侵染率的关联分析。

六、附录

Table 6: 各宿主植物样本的生物量及根系功能性状指标详情

Species	香堇菜			香附子			合欢		
	Sample	1	2	3	1	2	3	1	2
地上部干重 (g)	1.1115	0.8201	0.2992	0.5501	0.3228	0.8012	0.3039	0.0115	0.0196
地下部干重 (g)	0.2445	0.1247	0.0535	0.1603	0.0293	0.1899	0.9207	0.0870	0.0178
根冠比	0.220	0.152	0.179	0.291	0.091	0.237	3.030	7.565	0.906
比根长 (m/g)	9.67	10.08	25.68	25.16	103.53	11.45	1.71	21.69	64.65
根密度 (g/cm ³)	0.059	0.093	0.054	0.014	0.004	0.049	0.309	0.422	0.063
平均根直径 (mm)	0.76	0.73	0.55	0.95	0.92	0.86	0.91	0.23	0.43
侵染率 (%)	73.33	73.33	73.33	63.33	63.33	63.33	43.33	43.33	43.33

线
订
装

Table 7: 原始数据

文件名	网络面积 (mm ²)	平均直径 (mm)	周长 (mm)	体积 (mm ³)	表面积 (mm ²)
合欢-1	803.97	0.911	2032.68	2984.37	4787.46
合欢-2	284.19	0.226	3284.06	205.97	1364.58
合欢-3	336.59	0.426	1670.95	282.15	1571.39
香附子-1	1381.87	0.946	4433.96	11842.96	13106.48
香附子-2	1125.49	0.923	3208.84	7145.24	9508.45
香附子-3	702.09	0.863	2183.56	3860.93	6295.49
香堇菜-1	873.20	0.764	2930.70	4175.55	5920.47
香堇菜-2	515.03	0.726	1611.58	1341.98	2946.04
香堇菜-3	366.79	0.548	1630.59	981.85	2435.36

线
订
装

Table 8: 原始数据 (续表)

文件名	根尖数量	分支点数量	总根长 (mm)	每毫米分支频率
合欢-1	1087	1448	1575.08	0.919
合欢-2	858	1453	1886.93	0.770
合欢-3	1061	1301	1147.50	1.134
香附子-1	2988	4906	4033.70	1.216
香附子-2	2259	3601	3033.42	1.187
香附子-3	1573	2787	2174.13	1.282
香堇菜-1	1268	2670	2363.43	1.130
香堇菜-2	807	1239	1257.29	0.985
香堇菜-3	792	1930	1374.02	1.405