我国北方农田土壤中 AM 真菌的多样性

盖京苹 冯 固 李晓林*

(中国农业大学资源与环境学院植物营养系, 农业部植物营养学重点实验室, 教育部植物-土壤相互作用重点实验室, 北京 100094)

摘要: AM 真菌是农业生态系中一类重要的土壤微生物, 它在农田土壤中的发生和分布受多种环境因素的影响。为深入了解我国北方农田土壤中 AM 真菌的多样性规律, 于 2000 年在河北、山东的农田土壤中采集有代表性的土样 127 个。通过进一步扩繁、纯化, 从中分离出 AM 真菌 5 属 22 种, 鉴定了 20 个种, 包括一个国内新记录种沾屑球囊霉(*Glomus spurgum*)。分析 AM 真菌的多样性特点及其影响因素发现, 农田土壤中以球囊霉属(*Glomus*) 的频度最高, 其次为无梗囊霉属(*Acaulospora*); 优势种类为幼套球囊霉(*Glomus etunicatum*) 和摩西球囊霉(*Glomus mosseae*)。土壤速效磷含量、pH 状况主要对孢子密度产生影响, 对种群分布影响不大。宿主植物类型对 AM 真菌的侵染状况和多样性影响较大, 比较玉米(*Zea mays*)、甘薯(*Ipomoea batatas*) 根区 AM 真菌的种群组成后发现两者有所不同, 但优势种一致。

关键词: 丛枝菌根, 分离, 鉴定, 种群分布, 宿主植物

中图分类号: Q938 文献标识码: A 文章编号: 1005-0094(2004)04-0435-06

Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in field soils from North China

GAI Jing-Ping, FENG Gu, LI Xiao-Lin*

Key Laboratory of Plant Nutrition, Ministry of Agriculture; Key Laboratory of Plant-Soil Interactions, Ministry of Education; Department of Plant Nutrition, China Agricultural University, Beijing 100094

Abstract: Arbuscular mycorrhizal (AM) fungi are important soil microorganisms in agroecosystems. Biodiversity among AM fungi in crop fields is influenced by many factors, including soil properties and plant species. In order to study AM fungal diversity in field soil of North China, we collected 127 soil samples from various crop fields from Shandong and Hebei provinces. Culture and purification of the mycorrhizal fungi led to the isolation of 22 species in five genera. Among these, 20 species were identified, including a new record for China, *Glomus spurgum* Pfeiffer, Walker & Bloss. The frequency of occurrence of the genus *Glomus* was the highest and *Acaulospora* was the second most common genus, while *Glomus etunicatum* and *G. mosseae* were dominant species. Spore density was affected by soil Olsen-P content and pH, while species diversity was little affected. Moreover, AM fungi species colonization and diversity was greatly affected by host plants. Although AM fungi hosted by maize and sweet potato had similar dominant species, there were differences in species composition.

Key words: arbuscular mycorrhiza, isolation, identification, species distribution, host

丛枝菌根(arbuscular mycorrhiza, AM)真菌生态适应性强, 在自然界中分布极其广泛, 农业土壤中的 AM 真菌可占土壤微生物总生物量的 5% - 50% (Olssen *et al.*, 1999), 是农业意义和生态意义均十分重大的一类土壤真菌。

自 20 世纪 80 年代以来, 我国在 AM 真菌的资源调查方面做了大量工作, 特别是在其生物多样性

及资源利用方面开展了较为系统的研究(张美庆等, 1994, 1999a, 1999b)。但目前对如何合理利用农业土壤中的 AM 真菌仍缺乏足够的认识。田间条件下的接种效果往往不稳定, 不同作物上的接种效应差别也很大, 其影响因素除了土壤条件外, 土著 AM 真菌群落的影响是一个重要的方面(Jansa *et al.*, 2002; Gazey *et al.*, 2004)。因而了解农田土壤

中土著 AM 真菌的发生和分布规律 ,对于 AM 真菌真正走向大田应用具有重要的意义。

本研究调查了我国北方地区河北和山东两省的农田土壤中的 AM 真菌的分布状况 ,并分析了土壤理化性质和农作物类型对 AM 真菌多样性的影响 ,以期为农田土壤中 AM 真菌的种质资源开发及应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 采样区的自然概况

山东省位于 33°25′ – 38°23′ N ,114°36′ – 122°43′ E 之间 ,属暖温带大陆性季风气候 ,年平均气温 11 – 14℃ ,年平均降水量分别为 550 – 950 mm ,是我国重要的农作物栽培区。

河北省位于 36°03′ – 42°40′ N ,113°27′ – 119°50′ E 之间 ,属温带大陆性季风气候 ,年平均气温 0 – 13℃ ,年平均降水量分别为 300 – 800 mm。土地利用以农业为主 ,耕地面积占总土地面积的 37.35%。

1.2 调查概况

选择我国北方有代表性的农业区河北省和山东省作为采样区。在河北省根据自然分布状况和土地区划 ,在包括海积冲积平原滨海盐土、潮土区 ,冲积平原潮土区 ,太行山山前冲积洪积平原褐土区 ,燕山山前冲积洪积平原潮土、褐土区 ,太行山褐土棕壤区 ,燕山棕壤褐土区 ,冀西北山间盆地栗褐土区和坝上高原栗钙土区等 8 个区分别选择采样点 ;山东省在 3 个主要植被区 ,即鲁东丘陵区、鲁中南山区和鲁西北平原区选择采样点 (图 1) ,分别在 2000 年 6 – 7 月和 10 月采集 26 种宿主植物根区的土样 127 个 ,其中包括农作物如玉米(*Zea mays*)、甘薯(*Ipomoea batatas*)、高粱(*Sorghum vulgare*)、棉花(*Gossypium hirsutum*)、小麦(*Triticum aestivum*)等 ,蔬菜如大葱(*Allium fistulosum*)、黄瓜(*Cucumis sativus*)、马铃薯(*Solanum tuberosum*)等以及其他植物如板栗(*Castanea mollissima*)、狗尾草(*Setaria viridis*)等。

采样时先去掉 2 cm 厚表土 ,取 2 – 30 cm 土层中植物根围土壤混合样品 2 kg ,装入土袋中 ,附上标签 ,记录采样人、采样时间、地点、宿主植物名称及周围环境等 ,按照欧洲丛枝菌根真菌菌种保藏库的采样标准填写菌种登记表。

图 1 河北、山东采样分布图
Fig. 1 Sample sites in Hebei and Shandong provinces

1.3 土样理化性状的测定

采集的土样带回实验室后 ,进行主要理化性状的测定 ,包括土壤 pH 值(精密酸度计测定)和土壤速效磷(NaHCO_3 浸提 – 钼锑抗比色法)。

1.4 孢子的分离和检测

将土壤样品混匀 ,以四分法取 100 g 土样用湿筛倾注 – 蔗糖离心法 (Daniels & Skipper ,1982) 筛取孢子 ,在体视显微镜下于培养皿内分格计数 ,测定孢子密度。

1.5 AM 真菌的盆栽诱集培养

将土样与干净的河沙混匀于温室内播种三叶草 (*Trifolium repens*)、烟草(*Nicotiana tabacum*)、大葱等对 AM 真菌进行加富培养 ,培养 3 – 5 个月后 ,即可用来分离 AM 真菌。

1.6 AM 真菌的分离

在体视显微镜下 ,用微吸管挑取形态特征一致的孢子 1 – 10 个 ,转移到面积为 1 cm^2 的滤纸片上 ,随后接种于生长 7 天的高粱苗上 ,按锥形管半液培法(Fang *et al.* ,1983)进行单孢和多孢培养。

1.7 AM 真菌的鉴定

自原始土样和培养物中分离到的孢子 ,用形态

观察法记载孢子的特征 , 根据 Schenck 和 Perez (1990) 及 INVAM (<http://invam.caf.wvu.edu/Myc-Info/>) 的最新分类描述 , 并参阅有关鉴定材料和近年来发表的新种等进行种属的检索、鉴定 ; 对于难确定的种或可能的新种、新记录种进一步进行单孢培养 , 获得大量的同源孢子 , 再确定种类。部分种类请英国专家 John C. Dodd 协助进行鉴定。

1.8 数据分析

分别计算不同采样区 AM 真菌的丰度(*SR*)、频度(*F*) , 具体方法如下。

种的丰度(*SR*)指植物根层 20 g 土壤中含有的 AM 真菌种的数目 , 公式为 : $SR = \text{AM 真菌总种次数} / \text{土壤样本数}$ 。

频度(*F*)指某物种在样本总体中的出现率 , 公式为 : $F = (\text{某属或种的出现次数} / \text{土样数}) \times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 AM 真菌的多样性

在所采土壤样品中共分离出 AM 真菌 5 属 22 种 , 其中球囊霉属(*Glomus*) 14 种(包括一个新记录种) , 无梗囊霉属(*Acaulospora*) 4 种 , 内养囊霉属(*Entrophospora*) 1 种 , 盾巨孢囊霉属(*Scutellospora*) 2 种 , 巨孢囊霉属(*Gigaspora*) 1 种 , 已鉴定 20 种 , 尚有 2 个未定种(表 1)。

进一步分析调查区域内 AM 真菌种的丰度(species richness)、频度(frequency)、孢子密度(spore density)等多样性因子 , 发现本调查中农作物根区的种群丰度为 2.3 , 平均孢子密度为 1.3 个/g 土。属的频度以球囊霉属最高 , 其次是无梗囊霉属(表 2)。

不同 AM 真菌种的频度差异很大。如果以种的频度作为选取优势种的标准 , 频度大于 50% 的种类为优势种 , 大于 30% 而小于 50% 的种类为常见种 , 则本调查农作物根区的优势种类为幼套球囊霉(*Glomus etunicatum*) 和摩西球囊霉(*G. mosseae*) , 常见种为根内球囊霉(*G. intraradices*) 和苏格兰球囊霉(*G. caledonium*)。

2.2 土壤因子对 AM 真菌多样性的影响

以与 AM 真菌的生长发育关系较密切的土壤速效磷含量、pH 值为例 , 研究土壤因子对 AM 真菌多样性的影响。由表 3 可见 , 土壤速效磷含量、土壤 pH 值对 AM 真菌种的丰度影响不大 , 但对孢子密度

有一定的影响 : 在偏酸性土壤条件下 , 孢子密度较大 ; 当速效磷含量在 5.0 – 15.0 mg/kg 的范围时 , 孢子密度最高。这说明孢子密度对土壤速效磷含量、土壤 pH 值的变化较为敏感 , 农业措施特别是肥料的施用会对 AM 真菌的数量产生影响。

2.3 宿主植物与 AM 真菌的多样性

表 4 以 13 种主要作物为例 , 显示了不同作物的菌根形成状况和种的多样性特点。可以看出大多数植物都能形成丛枝菌根 , 但仍有少量样本根系检测不到菌根侵染。与多样性相关的参数如孢子密度、种群丰度和频度因作物而明显不同 , 但在农作物与蔬菜作物间却无明显的差异。总体来看 , 甘薯、高粱、玉米、大葱等菌根依赖性强的作物的各个参数均较高。

表 1 我国北方地区分离的 AM 真菌种类
Table 1 AM fungi isolated from North China

无梗囊霉属 <i>Acaulospora</i>	
浅窝无梗囊霉	<i>A. lacunosa</i>
蜜色无梗囊霉	<i>A. mellea</i>
莫氏无梗囊霉	<i>A. morrowiae</i>
刺无梗囊霉	<i>A. spinosa</i>
内养囊霉属 <i>Entrophospora</i>	
<i>En.</i> sp.	
巨孢囊霉属 <i>Gigaspora</i>	
珠状巨孢囊霉	<i>Gi. margarita</i>
球囊霉属 <i>Glomus</i>	
聚丛球囊霉	<i>G. aggregatum</i>
苏格兰球囊霉	<i>G. caledonium</i>
近明球囊霉	<i>G. claroideum</i>
明球囊霉	<i>G. clarum</i>
缩球囊霉	<i>G. constrictum</i>
幼套球囊霉	<i>G. etunicatum</i>
地球囊霉	<i>G. geosporum</i>
根内球囊霉	<i>G. intraradices</i>
大果球囊霉	<i>G. macrocarpum</i>
摩西球囊霉	<i>G. mosseae</i>
网状球囊霉	<i>G. reticulatum</i>
沾屑球囊霉	<i>G. spurcum</i> *
地表球囊霉	<i>G. versiforme</i>
<i>G.</i> sp	
盾巨孢囊霉属 <i>Scutellospora</i>	
美丽盾巨孢囊霉	<i>S. calospora</i>
吉尔莫盾巨孢囊霉	<i>S. gilmorei</i>

* 新记录种 New record species

表 2 调查土壤中 AM 真菌属的频度
Table 2 Frequency of different genera in the sample soils

	球囊霉属 <i>Glomus</i>	无梗囊霉属 <i>Acaulospora</i>	盾巨孢囊霉属 <i>Scutellospora</i>	巨孢囊霉属 <i>Gigaspora</i>	内养囊霉属 <i>Entrophospora</i>
频度 Frequency	1.96	0.15	0.10	0.08	0.02

表 3 不同 pH 值和速效磷含量水平下 AM 真菌种的丰度和孢子密度
Table 3 Species richness and spore density of AM fungi at different pH and Olsen-P levels

	pH 值 pH value		速效磷含量 Olsen-P content (mg/kg)			
	5.0 – 7.0	7.0 – 9.0	<5.0	5.0 – 15.0	15.0 – 50.0	>50.0
种的丰度 Species richness	2.4	2.2	2.4	2.2	2.2	2.0
孢子密度 Spore density	1.9 ± 0.4	1.4 ± 0.3	1.0 ± 0.2	1.8 ± 0.5	1.5 ± 0.4	1.2 ± 0.3

表 4 不同农作物根区 AM 形成状况和真菌的多样性
Table 4 The colonization status and diversity of arbuscular mycorrhiza around roots of some crops

宿主植物 Host plant	侵染状况 M/N* Colonization status	孢子密度(个/克土) Spore density (number/g soil)	种群丰度 Species richness	种群频度 Species frequency
甘薯 <i>Ipomoea batatas</i>	6/0	1.58 ± 0.43	8	2.3
高粱 <i>Sorghum vulgare</i>	4/0	1.34 ± 0.23	5	3.3
谷子 <i>Setaria italica</i>	2/0	0.14 ± 0.05	3	3
花生 <i>Arachis hypogaea</i>	2/0	0.15 ± 0.03	2	2
棉花 <i>Gossypium hirsutum</i>	2/0	0.40 ± 0.11	2	2
水稻 <i>Oryza sativa</i>	1/1	1.24 ± 0.31	1	1
玉米 <i>Zea mays</i>	8/0	1.67 ± 0.40	8	2.9
小麦 <i>Triticum aestivum</i>	4/2	0.50 ± 0.16	6	2.3
大葱 <i>Allium fistulosum</i>	2/0	1.35 ± 0.34	6	3
胡萝卜 <i>Daucus carota</i>	1/1	0.15 ± 0.03	2	2
黄瓜 <i>Cucumis sativus</i>	2/0	0.80 ± 0.23	2	2
芸豆 <i>Phaseolus vulgaris</i>	2/0	0.90 ± 0.23	3	2
马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i>	3/1	0.79 ± 0.15	3	2

* M/N 中的 M、N 指形成丛枝菌根的样本数和未形成菌根的样本数
* M and N indicate the number of arbuscular mycorrhizal and non-mycorrhizal individuals respectively

表 5 玉米与甘薯根区 AM 真菌种群组成比较
Table 5 AM fungi composition in the rhizosphere of maize and sweet potato

宿主植物 Host plant	土样编号 Sample code	pH 值 pH value	速效磷含量 Olsen-P content (mg/kg)	AM 真菌种类 AM fungi species
玉米 <i>Zea mays</i>	HB3	8.39	2.2	<i>Glomus etunicatum</i> , <i>Acaulospora mellea</i>
	HB5	8.24	22.4	<i>G. etunicatum</i> , <i>G. mosseae</i>
	HB8	8.53	4.0	<i>G. etunicatum</i> , <i>G. mosseae</i> , <i>G. intraradices</i>
	HB9	8.41	4.4	<i>G. etunicatum</i> , <i>G. mosseae</i> , <i>G. geosporum</i> , <i>Scutellospora calospora</i>
	HB12	8.52	2.2	<i>G. etunicatum</i> , <i>G. mosseae</i>
甘薯 <i>Ipomoea batatas</i>	HB43	8.52	23.5	<i>G. etunicatum</i> , <i>G. mosseae</i> , <i>G. intraradices</i>
	HB49	8.07	50.3	<i>G. etunicatum</i> , <i>G. clarum</i> , <i>G. claroidiem</i>
	HB57	8.21	41.7	<i>G. etunicatum</i>
	HB63	8.35	7.1	<i>G. etunicatum</i> , <i>G. mosseae</i> , <i>G. claroideum</i>

进一步以玉米和甘薯为典型案例分析发现,玉米和甘薯根区的 AM 真菌群落存在一定的差别(表 5):玉米根区存在 3 属 6 种 AM 真菌,而甘薯根区则发现了 1 属 5 种 AM 真菌。但优势种类非常一致,均为 *Glomus etunicatum* 和 *G. mosseae*。

3 讨论

我国北方农业土壤中 AM 真菌的多样性主要受土壤 pH 值和作物类型的影响。土壤酸碱度主要通过影响产孢从而使 AM 真菌的多样性发生变化(表 4)。已有研究证实,酸碱度通过影响孢子的萌发、芽管菌丝的生长和菌丝对宿主植物根系的侵染等影响真菌的产孢量,一般中性偏酸的土壤有利于 AM 真菌产孢(盖京苹和刘润进,2003)。本研究通过分析 AM 真菌发生密切相关的两种土壤因子(土壤 pH 和速效磷含量)对 AM 真菌孢子密度和种群丰度的影响,发现高 pH 抑制了 AM 真菌的产孢。而土壤 pH 值对 AM 真菌种群丰度和组成均无显著影响。这说明多数 AM 真菌对土壤 pH 值的变化有一定的适应性。作物类型则不仅对 AM 真菌的产孢有影响,对种的多样性也有影响。这可能与宿主植物与真菌之间的相互选择性有关(Johansson *et al.*, 2004; Burrows & Pfleger, 2002)。不同宿主植物条件下 AM 真菌种群组成的差别,说明群落中单一 AM 真菌的生态位不同。

本研究还发现,我国北方农田土壤中 AM 真菌的优势种类明显,土壤理化性质对其影响不大。这可能由于长期耕作的农田土壤对 AM 真菌产生了一定的筛选压,更有利于少量生活力强的孢子繁殖(David *et al.*, 1999)。本调查中农作物根区的优势种为 *G. mosseae* 和 *G. etunicatum*,与张美庆等(1994)调查的北京和新疆地区栽培作物上的优势种结果相似。作者曾于 1997–1998 年调查了山东省野生植物上的 AM 真菌,发现野生植物上的优势种为摩西球囊霉和珠状巨孢囊霉(*Gigaspora margarita*) (盖京苹等 2000)。通过比较两者可以看出,摩西球囊霉是寄生范围非常广泛的种类。

大多数田间土壤中的 AM 真菌孢子由于受环境条件的影响,特征不够典型,经常不能被准确鉴定。而田间土壤中的 AM 真菌经过盆栽培养后,其中的某些种类易丢失,也不能准确地反映 AM 真菌的多样性。如 Brundrett 等(1999)对大田土壤中的 AM

真菌进行盆栽诱导培养后发现,仅有 50% 的 *Scutellospora*, *Acaulospora* 和 *Gigaspora* 的种类被培养成功,而在大田土壤中很少发现活孢子的某些 *Glomus* 属的种类,在盆栽诱导培养中则变成了优势种类。因而仅鉴定大田土壤或诱导培养物中的孢子都不能真实地反映 AM 真菌的多样性。本研究为了增加鉴定结果的准确性,首先对原始土壤中的 AM 真菌进行盆栽扩繁培养、分离纯化,然后参照原始土壤中的孢子综合鉴定,最终确定 AM 真菌的种类。结果表明扩繁后确实存在某些种的丢失现象,主要集中在一些非优势的种类,优势种类在原始土壤和扩繁土壤中相对比较稳定。

致谢:感谢英国菌根菌分类专家 John C. Dodd 博士在菌种鉴定中给予的帮助和张美庆研究员对研究工作的热心指导。

参考文献

- Brundrett, M. C., Abbott, L. K. and Jasper, D. A. 1999. Glo-malean mycorrhizal fungi from tropical Australia. *Mycorrhiza*, **8**: 305–314.
- Burrows, R. L. and Pfleger, F. L. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi respond to increasing plant diversity. *Canadian Journal of Botany*, **80**: 120–130.
- Daniels, B. A. and Skipper, H. D. 1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. In: Schenck, N. C. (ed.), *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. The American Phytopathology Society Press, St. Paul, USA, 29–35.
- Douds, D. D. Jr. and Millner, P. D. 1999. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **74**: 77–93.
- Fang, Y. C., McGraw, A. C. and Hendrix, J. W. 1983. A procedure for isolation of single spore culture of certain endomycorrhizal fungi. *New Phytologist*, **93**: 107–144.
- Gai, J. P. (盖京苹) and Liu, R. J. (刘润进). 2003. Effect of soil factors on arbuscular mycorrhizal (AM) fungi around roots of wild plants. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), **14**: 470–472. (in Chinese with English abstract)
- Gai, J. P. (盖京苹), Liu, R. J. (刘润进) and Li, X. L. (李晓林). 2000. Ecological distribution of arbuscular mycorrhizal fungi on wild plants in different vegetation regions of Shandong Province. *Chinese Journal of Ecology* (生态学报), **19** (4): 18–22. (in Chinese with English abstract)

Gazey, C., Abbott, L. K. and Robson, A. D. 2004. Indigenous and introduced arbuscular mycorrhizal fungi contribute to plant growth in two agricultural soils from south-western Australia. *Mycorrhiza*, **14**(in press)

Jansa, J., Mozafar, A., Anken, T., Ruh, R., Sanders, I. R. and Frossard, E. 2002. Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza*, **12**: 225 – 234.

Johansson, J. F., Paul, L. R. and Finlay, R. D. 2004. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *Microbiology Ecology*, **48**: 1 – 13.

Olsson, P. A., Thingstrup, I., Jakobson, I. and Bååth, E. 1999. Estimation of the biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in a linseed field. *Soil Biology and Biochemistry*, **31**: 1879 – 1887.

Schenck, N. C. and Perez, Y. 1990. *Manual for the Identification of VA Mycorrhizal Fungi* (2nd edn.), INVAM, University of Florida, Gainesville, USA.

Zhang, M. Q. (张美庆), Wang, Y. S. (王幼珊), Zhang, C. (张弛) and Huang, L. (黄磊). 1994. The ecological distribution of AM fungi in North China. *Acta Mycologica Sinica* (真菌学报), **13**: 166 – 172. (in Chinese with English abstract)

Zhang, M. Q. (张美庆), Wang, Y. S. (王幼珊) and Xing, L. J. (邢礼军). 1999a. The regional distribution of AM fungi in the east and south coast of China. *Mycosystema* (菌物系统), **18**: 145 – 148. (in Chinese with English abstract)

Zhang, M. Q. (张美庆), Wang, Y. S. (王幼珊) and Xing, L. J. (邢礼军). 1999b. The relationship between the distribution of AM fungi and environmental factors. *Mycosystema* (菌物系统), **18**: 25 – 29. (in Chinese with English abstract)

(责任编辑:时意专)