

呼和浩特市保护地蔬菜丛枝菌根真菌初步研究

杨秀丽, 闫 伟

(内蒙古农业大学 林学院, 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘要: 为了解保护地蔬菜丛枝菌根真菌(Arbuscular Mycorrhizal Fungi, AMF)资源及分布特性,调查了6个样点的120份土样中AMF状况。共分离到AMF 3属17种,14种鉴定到种,3种鉴定到属,分属于球囊霉属(*Glomus*)、无梗囊霉属(*Acaulospora*)和巨孢囊霉属(*Gigaspora*)。其中*Glomus*属分布较为广泛。缩球囊霉(*G. constrictum*)和幼套球囊霉(*G. etunicatum*)为优势种,在所有土样中出现的频度较高,说明适应性较强。分析了土壤连作年限、pH值、速效磷含量、全磷含量和有机质含量对丛枝菌根真菌(AMF)物种丰富度和孢子密度的影响,结果表明:保护地蔬菜根围AMF物种丰富度随连作年限的增加而大致呈下降趋势,随pH值(7.0~9.0)的增加而减少,随土壤速效磷含量和土壤全磷含量的增加变化不大;AMF孢子密度随土壤速效磷含量和土壤全磷含量的增加呈明显下降趋势。

关键词: 保护地;丛枝菌根真菌;孢子密度;物种丰富度;分离频度

中图分类号:S154.38 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2010)04-0206-03

A Preliminary Survey of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Greenhouse Vegetables in Huhhot District of Inner Mongolia

YANG Xiu-li, YAN Wei

(College of Forestry, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China)

Abstract: Diversities of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in the soil of vegetables grown in greenhouses were investigated. Three genera(*Glomus*, *Acaulospora* and *Gigaspora*) and 17 species(*G. constrictum*, *G. etunicatum*, *A. tuberculata*, *G. mosseae*, *G. dimorphicum* etc) were isolated. *Glomus* and *Acaulospora* distributed widely, which frequency were quite high in all of the soil samples. *G. constrictum* and *G. etunicatum* were dominant species. The frequency of the former was the highest, which showed it is strong adaptation in this situation. The influence of the replant years, pH value, contents of available P, total P and organic matter on species richness and spore density of AM fungi were analyzed. It was suggested that the spore richness of AM fungi in the soil decreased as the replant years and pH value(7.0-8.7) increased. AM fungal spore density decreased as the soil available P content and soil total P content increased.

Key words: Greenhouse; Arbuscular mycorrhizal fungi; Spore density; Isolation frequency

大棚保护地蔬菜栽培已成为蔬菜生产的一个重要组成部分。然而,由于大棚栽培蔬菜常年连作,加重并增多了土传病害^[1];大量化肥、农药的使用又污染了蔬菜;大棚常年或季节性的覆盖,土壤得不到雨水淋洗,导致土壤产生次生盐渍化^[2]。这些均不利于无公害蔬菜生产的发展。而丛枝菌根真菌(AMF)能够增加寄主植物矿质养分吸收,改善营养状况。近年来,AMF提高蔬菜品质的报道不断增多^[3,4]。本研究主要调查了内蒙古呼和浩特市周边大棚蔬菜根围AMF的资源与分布状况,并初步分析了连作年限、土壤pH值、土壤速效磷含量、土壤全磷含量和有机质含量等因子对AMF种群分布的影响。

1 材料和方法

1.1 采样

从2007年3月20日至4月20日,对呼和浩特市周边保护地蔬菜大棚进行了AMF资源调查。在呼和浩特市周边不同方位设了6个调查样点,分别是大台什村、小台什村、沟子板村、坝口子、一家村、合林村和前本滩村。在每个调查样点随机选取3~5个蔬菜大棚,每个蔬菜大棚根据大小均匀采取3~5个土样。取土样时先去掉表层土,在蔬菜侧根周围挖取土层2~20 cm土样2 kg左右,装入塑料袋,附上标签,记录采样人、采样时间、地点、寄主植物名

称及连作年限等。共采集土样 120 份 ,其中涉及的寄主植物有黄瓜、番茄、生菜、辣椒等。

1.2 AMF 孢子的分离与鉴定

将土壤样品混匀 ,用四分法称取 50 g 风干土壤 ,用湿筛倾析—蔗糖离心法分离 AMF 孢子^[5]。在体视镜下挑取 AMF 的孢子 ,用 PVLG(聚乙烯醇-乳酸-甘油) 和 PVLG + Melzer’s(1:1) 作为浮载剂将孢子置于载玻片上并对孢子进行计数 ,孢子果和丛生孢子按照 1 个孢子计算。根据孢子的大小、颜色、壁式结构和连孢菌丝的形态学特征并参考 Schenk^[6] 的鉴定手册以及 INVAM(<http://inva.caf.wvu.edu/Myc-Info/>) 和 IBG 的鉴定图片对 AMF 进行鉴定并拍照 ,按照 Morton^[7] 的分类系统对 AMF 进行鉴定分类。

1.3 AMF 的盆栽诱集培养

于 2007 年 7 月 2 日至 2008 年 11 月 2 日对采集到的土壤样品进行了为期 120 d 的诱集培养。培养基质为原土与消毒灭菌的河沙按体积 1:1 混匀 ,诱集培养植物为高粱。对培养后的土样同样进行孢子筛析和鉴定工作。并与从原土中分离得到的 AMF 进行比较分析 ,最后得出结论。

1.4 AMF 群落结构特征指标及数据分析

计算 AMF 的丰度、孢子密度、频度 ,并采用 SPSS 11.5 对上述指标进行方差分析。

AMF 的孢子密度、分离频度和物种丰富度计算如下:孢子密度 = 每 100 g 风干土壤中含有的 AMF 的孢子数;分离频度 = 某一个种出现的样品数/总样品数 × 100%;物种丰富度 = 每个土样中 AMF 的物种数^[8] (本试验指 100 g 风干土中的物种数) 。

优势种(Dominant species) 根据分离频度划分优势种 ,即分离频度 > 50% 为优势种。

1.5 土壤理化性质的测定

土壤有机质含量采用油浴加热-KCr₂O₇ 容量法;土壤速效磷含量采用 NaHCO₃ 浸提-钼锑抗比色法;土壤全磷含量采用 NaOH 熔融-钼锑抗比色法^[9];土壤 pH 值使用精密酸度计测定。

2 结果与分析

2.1 蔬菜大棚中 AMF 种类及其分离频度

从所采集的 120 份土样中共分离到 AMF 3 属 17 种 ,14 种鉴定至种 ,3 种鉴定至属 ,分属于 *Glomus*、*Acaulospora* 和 *Gigaspora* ,其中 *Glomus* 属分布较为广泛。各种的分离频度见表 1。优势种为缩球囊霉 *G. constrictum* 和幼套球囊霉 *G. etunicatum*。

2.2 不同寄主植物根围 AMF 物种丰富度和孢子密度

对黄瓜、番茄和生菜的土样进行分析表明:生菜

根围 AMF 的物种丰富度和孢子密度都明显高于黄瓜和番茄(表 2) 。

表 1 大棚蔬菜根围分离到的 AMF 及其分离频度

Tab.1 Genera species and their isolation frequency of AM fungi isolated in rhizosphere of greenhouse vegetables		
AMF 属 AMF genera	AMF 种 AMF species	分离频度 / % Isolation frequency
无梗囊霉属 <i>Acaulospora</i>	疣状无梗囊霉 <i>A. tuberculata</i>	40.00
	凹坑无梗囊霉 <i>A. excavata</i>	8.57
	细齿无梗囊霉 <i>A. denticulata</i>	2.86
球囊霉属 <i>Glomus</i>	缩球囊霉 <i>G. constrictum</i>	94.29
	幼套球囊霉 <i>G. etunicatum</i>	60.00
	一种球囊霉 <i>G. sp1</i>	42.86
	摩西球囊霉 <i>G. mosseae</i>	34.29
	两型球囊霉 <i>G. dimorphicum</i>	28.57
	地表球囊霉 <i>G. versiform</i>	22.86
	道氏球囊霉 <i>G. dominikii</i>	8.57
	何氏球囊霉 <i>G. hoi</i>	8.57
	黄球囊霉 <i>G. fulvum</i>	5.71
	多产球囊霉 <i>G. fecundisporum</i>	8.57
巨孢囊霉属 <i>Gigaspora</i>	一种球囊霉 <i>G. sp2</i>	8.57
	一种球囊霉 <i>G. sp3</i>	8.57
	白色球囊霉 <i>G. albidum</i>	2.86
	极大巨孢囊霉 <i>Gi. gigantea</i>	8.57

表 2 不同寄主植物对 AMF 丰富度和孢子密度的影响

Tab.2 Spore density and species richness of AMF in the rhizosphere of different plants			
项目 Item	黄瓜 <i>Cucumis sativus</i> L.	番茄 <i>Lycopersicon esculentum</i> M.	生菜 <i>Lactuca sativa</i> L.
SR	3.36 a	3.80 a	5.25 b
SD	50.89 a	67.49 ab	91.5 b

注: SD. 孢子密度(100 g 风干土中的孢子个数); SR. 物种丰富度(种/土样); 字母相同表示无显著差异($P>0.05$)。表 3 A 同。
Note: SD. Spore density(number of spores/100 g soil); SR. Species richness(number of species / soil sample); Values having the same letter are not significantly different($P>0.05$) ,Duncan’s test. The same as Tab.3 ,Tab.4.

2.3 连作对 AMF 分布的影响

大棚蔬菜根围 AMF 物种丰富度和 AMF 孢子密度随连作年限的增加而大致呈下降趋势 ,但差异不显著(表 3) 。

2.4 pH 值对 AMF 分布的影响

pH 值 7.0 ~ 8.0 土壤中的优势 AMF 为缩球囊霉(100.00%) 和疣状无梗囊霉(71.43%); pH 值 8.0 ~ 8.7 土壤中的优势 AMF 为缩球囊霉(93.33%)、幼套球囊霉(80.00%) 和摩西球囊霉(53.33%); pH 值对 AMF 物种丰富度和孢子密度的影响见表 3。

2.5 土壤速效磷含量和全磷含量对 AMF 分布的影响

大棚蔬菜根围 AMF 物种丰富度随土壤速效磷含量和土壤全磷含量的增加而变化不大; AMF 孢子密度随土壤速效磷含量和土壤全磷含量的增加呈明显下降趋势 ,且差异性显著(表 4) 。

2.6 土壤有机质含量对 AMF 分布的影响

由表 4 可看出在各水平有机质含量的土样中, 大于 200 g/kg 时, AMF 物种丰富度最大, 与 100 ~

200 g/kg 的差异性显著。可见有机质对 AMF 的分布有一定的影响。但孢子密度在不同有机质水平的变化不显著。

表 3 大棚连作年限、土壤 pH 值对 AMF 的物种丰富度和孢子密度的影响

Tab. 3 Effect of the replant years and pH on spore density and species richness of AMF

项目 Item	连作年限(年) The replant years			pH 值 pH value	
	1 ~ 5	6 ~ 10	10 ~ 20	7.0 ~ 8.0	8.0 ~ 8.7
SR	4.45 a	4.22 a	4.13 a	4.58 a	3.79 a
SD	83.84 a	75.93 a	54.26 a	84.10 a	43.28 b

表 4 土壤速效磷含量、土壤全磷含量和有机质含量对 AMF 的物种丰富度和孢子密度的影响

Tab. 4 Effect of contents of available P, total P and organic matter on spore density and species richness of AMF

项目 Item	土壤速效磷含量/(mg/kg) Contents of available P			土壤全磷含量/(g/kg) Contents of Total P			有机质含量/(g/kg) Organic matter		
	100 ~ 200	200 ~ 300	300 ~ 400	1 ~ 2	2 ~ 3	> 3	< 100	100 ~ 200	> 200
SR	4.71 a	3.90 a	4.00 a	4.80 a	3.88 a	3.57 a	4.28 a b	3.00 b	6.00 a
SD	123.42 a	70.23 b	42.25 c	123.42 a	67.07 b	45.18 c	57.67 a	75.83 a	50.95 a

3 结论与讨论

从保护地蔬菜土壤中分离到的 AMF 中 *Glomus* 属分布最为广泛, 这与前人的研究结论一致, 前人研究认为不同属种的 AMF 对生态环境的适应性不同, 我国北方地区 AMF 种群组成中, 球囊霉属所占比例最大^[10, 11]。优势种为 *G. constrictum* 和 *G. etunicatum*, 说明这两种 AMF 是广谱生态型, 对寄住植物要求不严格, 也是有待于开发利用的菌种资源。

本研究中保护地土壤的 pH 值较高(7.0 ~ 8.7), 原因为保护地常年或季节性的覆盖, 土壤得不到雨水淋洗, 导致土壤产生次生盐渍化^[2]。本试验调查的结果显示: pH 值 7.0 ~ 8.0 土壤中与 pH 值 8.0 ~ 8.7 土壤中的优势 AMF 组成不同; pH 值 7.0 ~ 8.0 土壤中的优势 AMF 为 *G. Constrictum* 和 *A. tuberculata*; pH 值 8.0 ~ 8.7 土壤中的优势 AMF 为 *G. constrictum*、*G. etunicatum* 和 *G. mosseae*。这些结果为今后筛选高效菌种提供了依据。

本研究结论表明保护地蔬菜根围 AMF 孢子密度随土壤速效磷含量和土壤全磷含量的增加呈明显下降趋势。导致这一现象的原因很可能与土壤速效磷含量过高、连作障碍、大量施用化肥和农药等有关。高磷往往抑制 AMF 的生长、发育和功能^[12], 进而影响到 AMF 种群分布和多样性; 连作年限越长, 土传病原物数量就越多^[2], 同时寄主种类单一, 也不利于 AMF 的多样性; 而大量施用农药和速效化肥都直接减少 AMF 的侵染和产孢。因而与自然农田土壤相比^[13], 保护地中 AMF 的种类与数量则较少^[14]。事实上, AMF 的多样性受到诸多环境因子的综合影响, 进一步研究多种生态因子对 AMF 多样性的影响, 对于筛选特定生态环境中优势菌种及其在生产中的应用是非常有意义的。

致谢: 本文完成得到内蒙古大学包玉英教授的指导, 在此表示诚挚的感谢。

参考文献:

- [1] 姚圣梅, 杨晓红, 郑雪红, 等. 蔬菜大棚土壤微生物群落的研究[J]. 中国蔬菜, 1997(4): 37-38.
- [2] 童有为, 陈淡飞. 温室土壤次生盐渍化的形成和治理途径研究[J]. 园艺学报, 1991, 18(2): 159-162.
- [3] 任志雨, 贺超兴, 李树和, 等. 丛枝菌根真菌对有机栽培黄瓜生长、产量和品质的影响[J]. 华北农学报, 2008, 23(6): 135-138.
- [4] 李敏, 刘润进. 蔬菜作物菌根研究新进展[J]. 中国农学通报, 2000, 16(6): 1-4.
- [5] Daniels B A, Skipper H D. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil [M] // Schenec NC. Methods and Principles of Mycorrhizal Research. St Paul Mino: American Society for Phytopathology, 1982: 29-37.
- [6] Schenk N C, Perez Y. Manual for identification of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi [M]. Florida: Synergistic Publications, 1988: 1-255.
- [7] Morton J B, Redecker D. Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera Archaeospora and Paraglomus, based on concordant molecular and morphological characters [J]. Mycologia, 2001, 93: 181-195.
- [8] Koske R E. Distribution of VA mycorrhizal fungi along a latitudinal temperature gradient[J]. Mycologia, 1987, 79: 55-68.
- [9] 中国土壤学会化学专业委员会. 土壤农业化学常规分析方法[M]. 北京: 科学出版社, 1983: 74-169.
- [10] 张美庆, 王幼嫻, 黄磊, 等. 我国北方 VA 菌根真菌某些属和种的生态分布[J]. 真菌学报, 1994, 13(30): 166-172.
- [11] 唐明, 薛捷, 杨慧平. 甘肃几种旱生植物 VA 菌根真菌的研究[J]. 云南农业大学学报, 2004, 19(6): 638-642.
- [12] Tawaray K, Saito M, Morioka M. Effect of phosphate application to arbuscular mycorrhizal onion on the development and succinate dehydrogenase activity of internal hyphae [J]. Soil Science and Plant Nutrition, 1994, 40(4): 667-673.
- [13] 盖京苹, 刘润进, 李晓林. 山东省不同植被区内野生根围 AM 真菌的生态分布[J]. 生态学杂志, 2000, 19(4): 18-22.
- [14] 刘润进, 李敏, 王发园. 大棚蔬菜根围 AM 真菌多样性研究初报[J]. 莱阳农学院学报, 2001, 18(4): 280-283.