

# 河北安国新“八大祁药”根际 AM 真菌与土壤因子的关系

赵金莉\*, 程学谦, 顾晓阳, 刘 斌

(河北大学 生命科学学院, 河北 保定 071002)

**摘要:** 研究了河北省安国市新“八大祁药”根际土壤中丛枝菌根真菌(AMF)的菌根结构类型及土壤因子与其侵染率的关系。结果表明:(1)祁花粉、祁紫苑和祁沙参菌根类型为中间型(I-型),祁白芷、祁荆芥和祁山药为重楼型(P-型),祁菊花、祁薏苡为疆南星型(A-型)。(2)新“八大祁药”植物根际 AMF 种类丰富,共分离鉴定出 5 属 31 种。黑球囊霉(*G. melanosporum*)和摩西球囊霉(*G. mosseae*)是 8 种药用植物的共同优势种。(3)新“八大祁药”植物的菌根侵染率主要受其根际土壤蛋白酶活性的影响。这说明,新“八大祁药”能与 AMF 形成良好的共生关系,并且 AMF 种类分布和侵染状况与土壤因子有明显的相关性。

**关键词:** 河北安国; 新“八大祁药”; 丛枝菌根真菌; 土壤因子; 侵染率

中图分类号: Q949.95 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2012)06-0087-05

## Relationship between AM Fungi of New Eight Medicinal Plants and Soil Factors in Anguo of Hebei

ZHAO Jin-li\*, CHENG Xue-qian, GU Xiao-yang, LIU Bin

(College of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, China)

**Abstract:** The species and mycorrhizal structure type of arbuscular mycorrhiza fungi (AMF) in rhizosphere of new eight medicinal plants, and the effect of soil factors on colonization rate were studied. The results showed that 31 species of AMF were identified from the rhizosphere of new eight medicinal plants, in which *G. melanosporum* and *G. mosseae* were the dominant fungi. Mycorrhizal structure type of *Radix trichosanthis*, *Aster tataricus* and *Adenophora stricta* were Intermediate-type, *Angelica dahurica*, *Schizonepeta tenuifolia* and *Rhizoma dioscoreae* were Arum-type, while *Dendranthema morifolium* and *Semen coicis* were Paris-type, respectively. Path analysis indicated that protease activity played a leading role in their mycorrhizal fungal colonization rate. Conclusively, the new eight medicinal plants with AMF formed good symbiosis, and the soil factors affected the species distribution and infection status of AMF.

**Key words:** Anguo of Hebei; new eight medicinal plants in Qizhou; arbuscular mycorrhizal fungi; soil factors; colonization rate

丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhiza fungi, 简称 AMF)广泛分布在各种陆地生态系统中,其作为土壤微生物群落的重要组成成分,可与 80% 以上的高等植物共生形成菌根。大量研究表明,生态环境对丛枝菌根真菌的种类分布、侵染过程和孢子形

成有很大影响<sup>[1]</sup>,其中土壤类型、土壤理化性质、海拔和气候环境对 AMF 孢子的形成、种属的分布和侵染过程影响最大,从而造成在不同地域或同一地域由于土壤因子或气候条件不同,AMF 的群落组成和分布也不同,菌根的孢子密度和侵染状况亦会

收稿日期: 2012-01-20

基金项目: 河北大学博士基金项目(2009-166); 河北大学大学生科技创新项目(2010070)

作者简介: 赵金莉(1973-),女,河北景县人,博士,主要从事植物逆境生理和菌根生物工程研究。\*为通讯作者:

E-mail: zhaojinli1107@126.com

发生变化<sup>[2]</sup>。还有一些研究表明,不同的宿主植物,氮、磷等土壤因子对其根际 AMF 的孢子密度和侵染率的影响也存在很大差异<sup>[3]</sup>。此外,不同的宿主植物对 AMF 的产孢及侵染能力的影响各异。

河北省安国市古称祁州,以传统的“八大祁药”闻名海外。但随着时间的推移,部分药材品种的药效、药性退化,经济效益下降,近年,经过查阅资料、现场考察、遴选出祁菊花、祁紫苑、祁白芷、祁山药、祁薏苡、祁荆芥、祁沙参、祁花粉等新“八大祁药”。而河北安国市新“八大祁药”(8 种药用植物)AMF 与土壤因子的关系迄今尚无研究报道。鉴于此,对河北省安国市药用植物种植基地内新“八大祁药”的丛枝菌根结构特征、侵染状况、丛枝菌根真菌种类及土壤理化性质进行了分析,探讨该种植基地新“八大祁药”的丛枝菌根真菌资源以及土壤因子对其侵染率的影响,为充分合理地利用 AMF 来改善药材品质和提高药材产量提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究地概况

河北省安国市位于冀中平原,东经 115°20′,北纬 38°24′。气候温和,四季分明,属于暖温带半湿润季风气候,适合野生和人工栽培中药材植物的生长。安国市年平均气温为 12.2℃;年大于 10℃积温 4 349℃;年日照为 2 563 h;年平均降水量 570 mm。年无霜期约为 210 d。

### 1.2 样品采集

在河北省安国市药用植物种植基地分别采集新“八大祁药”(祁花粉、祁菊花、祁山药、祁白芷、祁薏苡、祁紫苑、祁荆芥、祁沙参)的根际土壤。在每种植物中随机选取 4 株,在每株植物的东西南北 4 个方位,除去 5 cm 表层土后,挖取 10~40 cm 土层的根际土样约 1 kg,并挑选植物细根放入 FAA 固定液中,分别编号并带回实验室。

### 1.3 AMF 侵染率的测定

将固定的根样用自来水洗净并剪成 1.0 cm 长的根段,采用透明压片法制片<sup>[4]</sup>,在 Nikon CX21 显微镜下观察菌根的各种结构特征,并统计菌根侵染率。

### 1.4 AMF 的鉴定

将通过湿筛倾析—蔗糖梯度离心分离出的 AMF 孢子,以 Melzer's 试剂、乳酸、PV LG(聚乙烯醇-乳酸-甘油)和水为浮载剂进行压片。根据 Schenck<sup>[5]</sup>的“VA 菌根鉴定手册”和国际 AM 真菌保藏中心的分类描述,同时参考近年来文献报道的新种进行 AMF 种属的鉴定。

### 1.5 土壤理化性质的测定

土壤有机质用重铬酸钾氧化法,碱解氮用碱解扩散法,速效磷用 NaHCO<sub>3</sub> 浸提-钼锑抗比色法,速效钾用四苯硼钠比浊法<sup>[6]</sup>,球囊霉素按照 Wright<sup>[7]</sup>和修改后的 David 等<sup>[7]</sup>的方法测定。土壤酸性磷酸酶用改进的 Tabatabai 和 Brimmer 方法<sup>[8]</sup>。活性以每克风干土培养 1 h 酸性磷酸酶转化对硝基苯磷酸二钠(PNPP)的量( $\mu\text{mol}$ )表示;蛋白酶用茚三酮显色法<sup>[9]</sup>,活性以每克风干土中的蛋白酶在 1 h 内转化蛋白产生甘氨酸(Gly)的质量( $\mu\text{g}$ )表示;脲酶用改进的 Hoffmann 与 Teicher 比色法<sup>[10]</sup>,活性以每克风干土培养 1 h 脲酶转化尿素产生  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  的质量( $\mu\text{g}$ )表示。

### 1.6 数据分析

数据处理采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 新“八大祁药”菌根结构特征

对新“八大祁药”即祁花粉、祁菊花、祁山药、祁白芷、祁薏苡、祁紫苑、祁荆芥、祁沙参菌根结构的观察表明,8 种药用植物均能形成丛枝菌根共生体。在祁花粉、祁紫苑和祁沙参根皮层中有大量孢间菌丝和孢内菌丝圈,菌根类型为中间型(Intermediate-type, I-型);祁白芷、祁荆芥和祁山药根皮层细胞中存在菌丝圈,菌根类型为重楼型(Paris-type, P-型);祁菊花、祁薏苡根皮层部细胞中观察到树枝状丛枝,菌根类型为疆南星型(Arum-type, A-型)。

### 2.2 新“八大祁药”植物根际 AMF 分布的多样性

从新“八大祁药”植物根际土壤中共分离到 AMF5 属 31 种。球囊霉属(*Glomus*) 18 种,占 58.06%;无梗囊霉属(*Acaulospora*) 6 种,占 19.35%;盾巨孢囊霉属(*Scutellospora*) 5 种,占 16.13%;多孢囊霉属(*Diversispora*) 1 种,原囊霉属(*Archaeospora*) 1 种(表 1)。黑球囊霉(*G. melanosporum*)和摩西球囊霉(*G. mosseae*)是 8 种药用植物的共同优势种。

### 2.3 新“八大祁药”植物根际土壤的理化性质和 AMF 侵染率

河北省安国市药用植物种植基地新“八大祁药”植物根际土壤理化性质结果表明(表 2),各土壤因子在宿主植物间均有较明显的差异。根际土壤碱解氮、速效磷、速效钾、有机质和酸性磷酸酶活性均以祁紫苑最高,祁花粉最低;蛋白酶活性以祁荆芥根际土壤最高,祁花粉最低;脲酶活性在祁薏苡最高,祁山药最低。祁菊花、祁白芷、祁薏苡和祁紫苑的菌根

侵染率均在 90% 以上,与祁山药、祁荆芥和祁沙参 96.33%。以上结果说明不同宿主植物根际土壤理化性质不同,从而引起菌根侵染率的差异。

表 1 丛枝菌根真菌在新“八大祁药”根际的分布情况

AMF		祁花粉	祁菊花	祁山药	祁白芷	祁薏苡	祁紫苑	祁荆芥	祁沙参
属	种								
球囊霉属( <i>Glomus</i> )	聚丛球囊霉( <i>G. aggregatum</i> )	+				+			
	白色球囊霉( <i>G. albidum</i> )			+					
	明球囊霉( <i>G. clarum</i> )		+						+
	缩球囊霉( <i>G. constrictum</i> )	+		+					
	透光球囊霉( <i>G. diaphanum</i> )		+			+			
	两型球囊霉( <i>G. dimorphicum</i> )	+						+	
	沙荒球囊霉( <i>G. deserticola</i> )			+					
	集球囊霉( <i>G. fasciculatum</i> )						+		
	斑点球囊霉( <i>G. maculosum</i> )					+			
	地球囊霉( <i>G. geosporum</i> )	+	+	+	+	+	+	+	+
	黑球囊霉( <i>G. melanosporum</i> )		+	+	+				+
	多梗球囊霉( <i>G. multicaule</i> )	+						+	+
	凹坑球囊霉( <i>G. multiforum</i> )						+		
	长孢球囊霉( <i>G. dolichosporum</i> )			+					
	摩西球囊霉( <i>G. mosseae</i> )	+	+	+	+	+	+	+	+
	网状球囊霉( <i>G. reticulatum</i> )					+			
	扭形球囊霉( <i>G. tortuosum</i> )							+	
	粘质球囊霉( <i>G. viscosum</i> )			+					
无梗囊霉属( <i>Acaulospora</i> )	细凹无梗囊霉( <i>A. scrobiculata</i> )	+							
	孔窝无梗囊霉( <i>A. foveata</i> )	+		+					
	凹坑无梗囊霉( <i>A. excavata</i> )				+				
	瑞氏无梗囊霉( <i>A. rehmi</i> )							+	
	双网无梗囊霉( <i>A. bireticulata</i> )		+		+				+
	光壁无梗囊霉( <i>A. laevis</i> )							+	
盾巨孢囊霉属( <i>Scutellospora</i> )	美丽盾巨孢囊霉( <i>Scut. calospora</i> )		+						+
	疣壁盾巨孢囊霉( <i>Scut. verrucosa</i> )	+		+			+		
	黑色盾巨孢囊霉( <i>S. nigra</i> )				+			+	
	异配盾巨孢囊霉( <i>S. heterogama</i> )				+				
	红色盾巨孢囊霉( <i>S. erythropo</i> )					+			
多孢囊霉属( <i>Diversispora</i> )	地表多孢囊霉( <i>D. versiforme</i> )					+			
原囊霉属( <i>Archaeospora</i> )	薄壁原囊霉( <i>Arc. leptoticha</i> )			+					

注: + 表示有分布。

表 2 新“八大祁药”根际土壤理化性质和 AMF 侵染率

宿主植物	侵染率/%	土壤因子						
		碱解氮/ (mg/kg)	速效磷/ (mg/kg)	速效钾/ (mg/kg)	有机质/ (g/kg)	蛋白酶活性/ [μg/(g·h)]	脲酶活性/ [μg/(g·h)]	酸性磷酸酶活性/ [μmol/(g·h)]
祁花粉	85.67ab	20.125a	10.973 8bc	7.155 0a	8.132 0a	25.514 0a	56.662 4a	29.413 9a
祁菊花	96.33a	37.625b	6.127 8ab	19.819 4bd	13.632 5ab	30.342 7a	80.853 4ab	53.617 1b
祁山药	76.23b	44.625bc	6.808 6ab	13.851 7ab	12.568 5ab	43.526 9b	53.086 4a	58.472 2bc
祁白芷	90.72a	37.625b	5.366 8a	43.842 9c	13.613 5ab	43.337 5b	55.049 7a	68.086 2dc
祁薏苡	93.53a	33.250ab	7.349 3b	30.771 6d	13.822 5ab	28.188 7a	179.300 1c	48.545 7b
祁紫苑	91.33a	55.125c	14.398 1c	45.216 1c	18.012 0b	55.243 5cd	154.267 7bc	92.481 7e
祁荆芥	78.35b	47.250bc	6.648 4ab	23.803 6bd	17.252 0b	57.918 2d	140.244 0bc	79.647 0de
祁沙参	73.67b	42.000bc	5.647 2a	20.684 1bd	14.563 5b	44.473 7bc	67.811 3a	61.356 4c

注:同一列数据中小写字母不同表示相同月份不同土层在  $P<0.05$  水平上差异显著。

## 2.4 土壤因子对新“八大祁药”植物 AMF 侵染率的影响

相关分析表明,不同土壤因子对新“八大祁药”植物 AMF 侵染率的影响不同(表 3)。其中土壤碱解氮、速效磷、有机质和脲酶活性与泡囊定殖率呈正相关,且脲酶活性达显著水平,而与菌丝定殖率呈负相关;蛋白酶活性和酸性磷酸酶活性与泡囊定殖率和菌丝定殖率均呈负相关。

丛枝菌根真菌产生的球囊霉素(Glomalin)是一种含金属离子的糖蛋白,主要存在于 AMF 孢子

壁层结构和菌丝体中,对维护 AMF 本身的生物及生理功能非常重要,当球囊霉素随孢子和菌丝降解而进入土壤后,又成为土壤有机源<sup>[11]</sup>。相关分析表明,土壤碱解氮、速效磷、速效钾、有机质、蛋白酶活性、酸性磷酸酶活性与新“八大祁药”根际总球囊霉素(Total glomalin)和易提取球囊霉素(Easily extractable glomalin)呈显著或极显著正相关,脲酶活性与易提取球囊霉素呈极显著正相关,而与总球囊霉素未达显著水平(表 3)。

通径分析表明,土壤蛋白酶活性对新“八大祁

表 3 新“八大祁药”植物根际 AMF 侵染率与土壤因子的相关分析

指标	碱解氮	速效磷	速效钾	有机质	蛋白酶活性	脲酶活性	酸性磷酸酶活性
泡囊定殖率	0.032	0.134	0.153	0.013	0.206	0.331*	-0.020
菌丝定殖率	-0.107	-0.084	0.171	-0.114	0.271	-0.051	-0.128
易提取球囊霉素	0.699**	0.385*	0.653**	0.676**	0.703**	0.530**	0.878**
总球囊霉素	0.582**	0.420**	0.498**	0.561**	0.438**	0.2376	0.697**

注: \*表示两者之间在  $P < 0.05$  水平有显著相关性, \*\*表示两者之间在  $P < 0.01$  水平有极显著相关性。

药”菌根侵染率有最大的直接作用(表 4),土壤因子碱解氮、有机质、酸性磷酸酶活性通过蛋白酶活性对新“八大祁药”植物的菌根侵染率的间接作用也较大,说明土壤蛋白酶活性对新“八大祁药”植物的菌根侵染率起主要影响。

进一步通径分析显示(表 5),土壤酸性磷酸酶

活性对新“八大祁药”根际总球囊霉素有最大的直接作用,速效磷次之;土壤因子碱解氮、速效钾、有机质通过酸性磷酸酶活性和速效磷对新“八大祁药”根际的总球囊霉素的间接作用也较大。说明土壤酸性磷酸酶活性和速效磷是影响新“八大祁药”植物根际的总球囊霉素的主要因素。

表 4 新“八大祁药”植物根际土壤因子与 AMF 侵染率的通径分析

土壤因子	直接影 响系数	间接影响系数							合计
		碱解氮	速效磷	速效钾	有机质	蛋白酶 活性	脲酶活性	酸性磷 酸酶活性	
碱解氮	0.080	—	-0.0183	0.036 9	-0.103 0	-0.310 4	0.136 2	0.177 4	-0.081 2
速效磷	-0.073	0.0201	—	0.014 9	-0.019 8	-0.030 0	0.175 0	0.046 7	0.206 9
速效钾	0.091	0.0325	-0.012 0	—	-0.097 0	-0.184 2	0.170 9	0.150 7	0.060 9
有机质	-0.198	0.0416	-0.007 3	0.044 6	—	-0.251 8	0.225 0	0.158 0	0.210 1
蛋白酶活性	0.476	0.0522	-0.004 6	0.035 2	-0.104 7	—	0.117 3	0.173 5	0.268 9
脲酶活性	0.451	0.0242	-0.028 3	0.034 5	-0.098 8	-0.123 8	—	0.072 7	-0.119 5
酸性磷酸酶活性	0.228	0.062 2	-0.015 0	0.060 2	-0.137 2	-0.362 2	0.143 9	—	-0.248 1

表 5 新“八大祁药”植物根际土壤因子与总球囊霉素的通径分析

土壤因子	直接影 响系数	间接影响系数							合计
		碱解氮	速效磷	速效钾	有机质	蛋白酶 活性	脲酶活性	酸性磷 酸酶活性	
碱解氮	0.108	—	0.088 6	0.038 2	0.154 4	-0.079 5	-0.067 6	0.340 8	0.474 9
速效磷	0.353	0.027 1	—	0.015 4	0.029 7	-0.007 7	-0.086 9	0.089 8	0.067 4
速效钾	0.094	0.043 8	0.057 9	—	0.145 5	-0.047 2	-0.084 9	0.289 5	0.404 6
有机质	0.297	0.056 2	0.035 3	0.046 1	—	-0.064 5	-0.111 8	0.303 5	0.264 8
蛋白酶活性	-0.122	0.070 4	0.022 2	0.036 4	0.157 1	—	-0.058 2	0.333 3	0.561 2
脲酶活性	-0.224	0.032 6	0.137 0	0.035 6	0.148 2	-0.031 7	—	0.139 7	0.461 4
酸性磷酸酶活性	0.438	0.084 0	0.072 4	0.062 1	0.205 8	-0.092 8	-0.0715	—	0.260 0

### 3 结论讨论

AMF 广泛分布在各种生态系统中,由于生态系统中各生态因子的不同造成 AMF 多样性的较大差异。本研究从河北安国市药用植物种植基地新“八大祁药”植物根际土壤中共鉴定出 5 属 31 种 AMF,种类比较丰富,并且与新“八大祁药”植物形成不同的菌根结构类型,祁花粉、祁紫苑和祁沙参为 I-型,祁白芷、祁荆芥和祁山药为 P-型,祁菊花、祁薏苡根为 A-型。这与以前研究显示的 A-型是栽培作物中常见的菌根类型,而 P-型常见于野生植物不尽相同<sup>[12]</sup>。一些研究认为,宿主植物种类或宿主植物物种本身的基因特性对菌根结构类型起主要作用,AMF 侵染类型会因植物根细胞形态结构的差异及细胞间隙的大小而产生差异<sup>[13]</sup>。因此,从系统演化和生态适应性的角度来看,河北安国市药用植物种植基地新“八大祁药”植物菌根类型是这 8 种药用植物在特定生态环境下与 AMF 协同进化的结果。由此推测新“八大祁药”的优良质地和甚佳功效可能与种类丰富的 AMF 及良好的共生关系有着密切联系。

通过对河北安国市药用植物种植基地新“八大祁药”植物根际菌根侵染率与土壤因子间关系的研究证明,土壤蛋白酶在菌根侵染过程中的影响最大,且在 AMF 侵染中起主要作用,它与 8 种药用植物的菌根侵染率呈正相关。土壤蛋白酶参与土壤中存在的氨基酸、蛋白质以及其他含蛋白质氮的有机化合物的转化,其活性强度常用来表征土壤氮素供应强度,与植物根际氮素营养密切相关。有些研究表明,无机氮有利于植物与菌根真菌形成共生,高施氮水平可促进植物的菌根侵染率<sup>[14-15]</sup>。本研究结果显示,土壤蛋白酶活性高,相应的植物根际氮素营养丰富,说明土壤蛋白酶通过提高植物根际的氮水平来影响菌根的形成。这也从土壤酶的角度说明了丛枝菌根在氮元素转化、转运中的独特作用<sup>[16]</sup>。

#### 参考文献:

[1] Bever J D, Schultz P A, Pringle A, *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi: more diverse than meets the eye, and the ecological tale of why[J]. *Bioscience*, 2002, 51:923-931.

[2] Gai J P, Christie P, Feng G, *et al.* Twenty years of research on community composition and species distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in China: a review [J]. *Mycorrhiza*, 2006, 16: 229-239.

[3] Udaiyan K, Karthikeyan A, Muthukumar T. Influence of edaphic and climatic factors on dynamics of root colonization and spore density vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in *Acacia farnesiana* Willd. and *A. planifrons* W. et. A. [J]. *Trees*, 1996, 11: 65-71.

[4] 弓明钦, 陈应龙, 仲崇禄. 菌根研究及应用[M]. 北京: 中国林业出版社, 1997: 13-14, 133-149.

[5] Schenck N C, Perez Y. Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi (second edition) [M]. Florida: Gainesville, 1988.

[6] 劳家桢. 土壤农化分析手册[M]. 北京: 中国农业出版社, 1988: 30-83.

[7] David P, Janos A, Sara G, *et al.* Glomalin extraction and measurement[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40 (3): 728-739.

[8] 宋勇春, 李晓林, 冯 固. 菌根真菌磷酸酶活性对红三叶草生境中土壤有机磷亏缺的影响[J]. *生态学报*, 2001 (7): 1130-1135.

[9] 山宝琴, 贺学礼, 白春明, 等. 荒漠油蒿 (*Artemisia ordosica*) 根围 AM 真菌分布与土壤酶活性[J]. *生态学报*, 2009, 29(6): 3044-3051.

[10] 周礼恺. 土壤酶学[M]. 北京: 科学出版社, 1987.

[11] Driver J D, Holben W E, Rillig M C. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37 (1): 101-106.

[12] Smith F A, Smith S E. Structural diversity in (vesicular) arbuscular mycorrhizal symbioses [J]. *New Phytologist*, 1997, 137: 373-388.

[13] 杨秀丽, 闫伟. 呼和浩特市保护地蔬菜丛枝菌根真菌初步研究[J]. *华北农学报*, 2010, 25(4): 206-208.

[14] Aziz T, Habte M. Influence of inorganic N on mycorrhizal activity nodulation growth of *Leucaena leucocephala* in an oxisol subjected to simulated erosion [J]. *Commun. Soil Sci Plant Anal*, 1989, 20: 239-251.

[15] Hepper C M. The effect of nitrate and phosphate on the vesicular-arbuscular mycorrhizal infection of lettuce[J]. *New Phytol*, 1983, 93: 389-399.

[16] Manjula G, Philip E P, Jin H R, *et al.* Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis [J]. *Nature*, 2005, 435