

不同宿主植物对井陉矿区 AM 真菌繁殖的影响

穆巧梅, 贺学礼, 王 蒙

(河北大学 生命科学院, 河北 保定 071002)

摘要: 温室盆栽条件下, 以灭菌土[土: 沙=1: 1(V/V)]为基质, 研究紫花苜蓿、黑麦草和高丹草对井陉煤矿菌根(AM)真菌生长繁殖的影响。结果表明, 3种植物都能与 AM 真菌形成良好共生关系。综合分析孢子密度、总定殖率、菌丝定殖率、泡囊定殖率和 SDH 活性 5 项指标, 发现紫花苜蓿作为宿主时 AM 真菌扩繁效果最好, 孢子密度为 5.03 个/g, 总定殖率为 42.22%, 菌丝定殖率为 40.00%, 泡囊定殖率为 13.33%, SDH 活性为 31.11%。仅泡囊定殖率和 SDH 活性紫花苜蓿与高丹草差异不显著, 与黑麦草差异显著; 其他指标紫花苜蓿与黑麦草、高丹草均有显著差异。相关性分析表明, AM 真菌孢子产量与定殖率、宿主植物生长状况无显著相关性。

关键词: AM 真菌; 宿主植物; 繁殖; 井陉煤矿

中图分类号: Q948.11 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2013)04-0085-04

Effects of Different Host Plants on Propagation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Collected in Jingxing Mining Area

MU Qiao-mei, HE Xue-li, WANG Meng

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

Abstract: Under greenhouse conditions, the effects of three different host plants (*Medicago sativa*, *Lolium perenne* and *Sorghum sudangrass*) on the propagation of arbuscular mycorrhizal fungi collected in Jingxing mining area was studied by potted culture. The culture medium was a mixture of soil and sand with a volume proportion of 1: 1 and was sterilized. The results showed that symbiotic relation was well established between plants and AM fungi. On the basis of the five indexes of spore density, total colonization rate, hyphal colonization rate, vesicular colonization rate and SDH activity, *Medicago sativa* was the best host plant for the propagation of arbuscular mycorrhizal fungi in Jingxing mining area, and the spore density, total colonization rate, hyphal colonization rate, vesicular colonization rate and SDH activity were 5.03 spores/g, 42.22%, 40.00%, 13.33%, and 31.11%, respectively. There was no significant difference for vesicular colonization rate and SDH activity between *Medicago sativa* and *Sorghum sudangrass*, while there was significant difference between *Medicago sativa* and *Lolium perenne*. There was significant difference among the three host plants in other indexes. Correlation analysis indicated that sporulation of AM fungi was not positively correlated with its colonization rate and the development of host plants.

Key words: arbuscular mycorrhizal fungi; host plants; propagation; Jingxing mining area

我国是煤炭储量比较丰富的国家, 也是世界上主要产煤国。煤炭开采带来经济快速发展的同时也引发了诸多环境问题, 如地表塌陷、植被破坏、水土

流失、粉尘污染、土壤微生物减少等。因此, 矿区土地复垦及生态恢复已成为全球性研究课题^[1]。井陉煤矿地处河北石家庄市井陉盆地, 总面积 69.98

收稿日期: 2012-09-11

基金项目: 河北省自然科学基金项目(C2010000273)

作者简介: 穆巧梅(1986-), 女, 河北曲阳人, 在读硕士研究生, 研究方向: 土壤真菌。E-mail: muqiaomei@126.com

* 通讯作者: 贺学礼(1963-), 男, 陕西蒲城人, 教授, 博士, 主要从事菌根生物技术研究工作。

E-mail: xuelh1256@yahoo.com.cn

km², 距今已有百余年开采历史。近年来, 随着矿区地下经济向地上经济转型, 井陘矿区土地利用面临更大挑战: 工矿用地增加、耕地减少、农田荒芜等^[2]。因此, 进行矿区土地恢复势在必行, 而生物综合治理是切实可行的有效途径。

AM 真菌是土壤生态系统中分布广泛的一类土壤有益微生物, 能与绝大多数高等植物形成菌根共生体^[3]。AM 真菌能增加植物对矿质营养的吸收, 增强植物抗逆性, 促进植物生长; 也能改良土壤结构, 增强土壤肥力, 有益于废弃地生态恢复等^[4]。Jenniftr 等^[5]的研究表明, 菌根可阻止植物群落衰退, 可能在生态重建中起重要作用。AM 真菌不同生态型之间存在生理学或形态学差异, 分离地环境影响 AM 真菌菌种的特性^[6]。所以应筛选矿区土著 AM 真菌进行扩繁, 最终接种于矿区土壤实现土地恢复目标。目前, AM 真菌不能进行纯培养, 只能通过宿主植物进行繁殖, 而有关矿区土著 AM 真菌扩繁研究少见报道。鉴于此, 进行了筛选繁殖矿区土著 AM 真菌的适宜宿主的试验, 旨在为充分利用 AM 真菌资源促进矿区生态恢复提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 AM 真菌 供试菌种来自河北石家庄井陘矿区优势植物红花刺槐 (*Robinia hispida*) 根围土, 经湿筛法得到的双网无梗囊霉 (*Acaulospora bireticulata*)。

1.1.2 宿主植物 紫花苜蓿 (*Medicago sativa*)、黑麦草 (*Lolium perenne*) 和高丹草 (*Sorghum sudangrass*) 均为牧草植物, 其种子购于保定市农资市场。紫花苜蓿和高丹草种子用 30 ℃ 温水浸泡过夜, 催芽后播种, 发芽率高于 90%; 黑麦草直接播种, 出苗率 100%。

1.1.3 培养基质 培养基质为农田用土、建筑用沙混合物沙: 土=1: 1(V/V)。培养前基质进行高压蒸汽间歇灭菌, 温度 121 ℃, 时间 30 min, 重复 3 次, 晾干备用。混合基质基本理化性质: 有机质 9.35 g/kg, 碱解氮 33.60 mg/kg, 速效磷 9.83 mg/kg, pH 值 7.87。

1.1.4 培养容器 采用 15 cm×10 cm×12 cm 规格塑料盆作为培养容器, 接种前用自来水清洗沥干后, 75% 乙醇消毒。

1.2 方法

1.2.1 试验设置 试验在河北大学生命科学学院玻璃温室完成。试验设接种和未接种 2 个处理, 采

用多孢接种、穴播方法。每盆培养基质挖 5 个小穴, 深度 3 cm; 每穴接入 8 个双网无梗囊霉孢子, 菌种上方 2 cm 处播种宿主植物种子 2 粒; 再随机播种 3 粒, 以保证株数。每个处理重复 3 次。随机排列, 隔天依次调换盆钵位置, 使各盆所处条件一致, 出苗后每盆留大小均匀的苗 10 株。

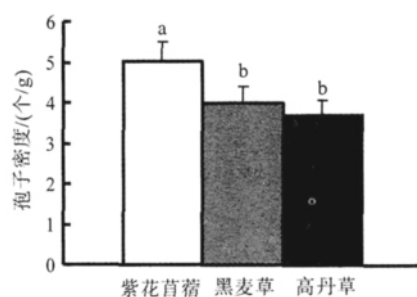
1.2.2 测定方法 于试验 20 周后, 分别收获植物地上部与根系, 取部分根系进行定殖率和琥珀酸脱氢酶活性测定, 其余部分于 50 ℃ 烘干至恒质量, 称质量; 培养基质自然风干。AM 真菌孢子密度用湿筛倾析—蔗糖离心法^[7]测定; 定殖率按 Phillips 等^[8]的方法测定; 菌丝琥珀酸脱氢酶活性依 Smith 等^[9]的方法测定; 菌根依赖性根据 Menge 等^[10]的方法测定; 其计算方法为, 菌根依赖性=按种植物干质量/对照植物干质量×100%, 本研究分别从地上部、下部和植物总干质量三方面计算菌根依赖性, 以确定其对 AM 真菌的依赖程度。植物全氮含量用凯氏定氮法测定。

1.2.3 数据分析 图表中数据是各处理的平均值。用 Excel 和 SPSS 19.0 软件对试验数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同宿主植物对 AM 真菌生长发育的影响

2.1.1 孢子密度 由图 1 可知, 在产孢方面, 不同宿主间存在一定差异, 以紫花苜蓿为宿主时产孢量最高, 黑麦草次之, 高丹草最低。紫花苜蓿与黑麦草、高丹草之间差异显著, 后两者之间无显著差异。



图中标有不同字母, 表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著。下同
图 1 不同宿主植物对 AM 真菌孢子密度的影响

2.1.2 定殖率和琥珀酸脱氢酶(SDH)活性 由图 2 可知, AM 真菌总定殖率、菌丝定殖率、泡囊定殖率和 SDH 活性变化趋势相同, 均为紫花苜蓿>高丹草>黑麦草。总定殖率三者之间差异均达显著水平; 菌丝定殖率表现为紫花苜蓿与黑麦草、高丹草有显著差异; 泡囊定殖率和 SDH 活性变化规律一致, 仅紫花苜蓿与黑麦草之间差异显著。

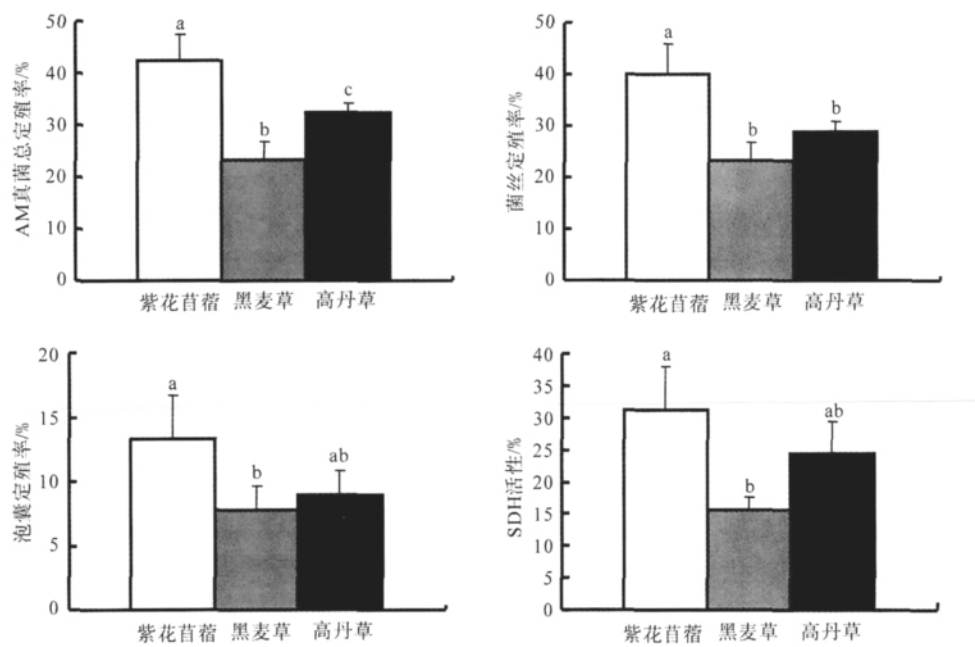


图 2 不同宿主植物对 AM 真菌生长的影响

2.2 AM 真菌对宿主植物生长的影响

2.2.1 生物量及菌根依赖性 从表 1 可见,接种与未接种处理相比,接种 AM 真菌促进宿主植物生长,使紫花苜蓿地上、地下和总生物量分别提高了 36.67%、12.50% 和 30.33%;黑麦草分别提高了 30.28%、28.95% 和 29.97%;高丹草分别提高了 30.41%、21.35% 和 27.13%。仅紫花苜蓿地下和总生物量接种前后无显著差异。

菌根依赖性指菌根促进宿主植物生长效应的大

小,实际应用时,常被用来预测某种菌种在特定植物上的应用潜力,这在矿区 AM 真菌与宿主植物选择性组合中具有重要意义^[11]。由表 1 可知,3 种植物对 AM 真菌均有依赖性,即接种 AM 真菌促进了植物生长,但植物各部分菌根依赖性不同且未呈现一定的规律性。地上部菌根依赖性紫花苜蓿最高,高丹草次之,黑麦草最低;地下部菌根依赖性黑麦草最高,高丹草次之,紫花苜蓿最低;对植物整体而言,黑麦草菌根依赖性最高,紫花苜蓿次之,高丹草最低。

表 1 不同宿主植物地上、地下的生物量 g

| 宿主植物 | 地上干质量 | | 地下干质量 | | 总生物质量 | | 菌根依赖性 | | |
|------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|
| | 接种 | 未接种 | 接种 | 未接种 | 接种 | 未接种 | 地上 | 地下 | 总 |
| 紫花苜蓿 | 1.23a | 0.90b | 0.36a | 0.32a | 1.59a | 1.22a | 136.67 | 112.50 | 130.33 |
| 黑麦草 | 3.27a | 2.51b | 0.98a | 0.76b | 4.25a | 3.27b | 130.28 | 128.95 | 129.97 |
| 高丹草 | 8.19a | 6.28b | 4.32a | 3.56b | 12.51a | 9.84b | 130.41 | 121.35 | 127.13 |

注:表中同行标有不同小写字母表示 $P<0.05$ 达显著水平。

2.2.2 全氮和粗蛋白含量 由表 2 可知,接种 AM 真菌提高了 3 种植物地上部全氮和粗蛋白含量。紫花苜蓿接种前后粗蛋白含量差异显著,其余二者均未

表 2 不同宿主植物地上部全氮和粗蛋白含量

| 宿主植物 | 全氮含量/(g/kg) | | 粗蛋白含量/% | |
|------|-------------|---------|---------|---------|
| | 接种 | 未接种 | 接种 | 未接种 |
| 紫花苜蓿 | 33.83aA | 29.87bA | 21.15aA | 18.67bA |
| 黑麦草 | 13.77aB | 13.07aB | 8.60aB | 8.17aB |
| 高丹草 | 9.92aC | 7.35aC | 6.20aC | 4.59aC |

注:小写字母是同行之间比较,大写字母是同列之间比较,不同字母表示达 $P<0.05$ 显著水平。

达显著差异,三者较未接种组分别提高了 13.25%、5.78% 和 34.54%。接种和未接种处理,紫花苜蓿粗蛋白含量最高,黑麦草次之,高丹草最低,三者之间差异显著。植物地上部全氮与粗蛋白含量变化规律性一致。

2.3 孢子密度与 AM 真菌定殖率、SDH 活性和宿主植物相关性分析

由表 3 可知,孢子密度与总定殖率、菌丝定殖率、孢子定殖率、SDH 活性、植物地上干质量和粗蛋白含量无显著相关性。

表 3 孢子密度与 AM 真菌定殖率、SDH 活性和宿主植物相关性分析

| 项目 | 孢子密度 | | |
|--------|-------|--------|--------|
| | 紫花苜蓿 | 黑麦草 | 高丹草 |
| 总定殖率 | 0.466 | 0.720 | 0.679 |
| 菌丝定殖率 | 0.150 | 0.720 | 0.297 |
| 孢囊定殖率 | 0.363 | 0.693 | -0.975 |
| SDH 活性 | 0.384 | -0.693 | 0.850 |
| 地上干重 | 0.062 | 0.211 | 0.716 |
| 粗蛋白含量 | 0.230 | 0.620 | 0.994 |

3 结论与讨论

在灭菌基质土：沙=1：1(V/V)培养条件下，3种宿主植物对矿区 AM 真菌繁殖的影响效果不同，紫花苜蓿繁殖效果最好。孢子产量、定殖率、SDH 活性、地上部菌根依赖性和粗蛋白含量均高于其他宿主。这为矿区应用 AM 真菌进行生态恢复提供了基础资料。

菌剂生产中，王幼珊等^[12]研究认为，菌根侵染率、孢子数、根外菌丝量等都可作为 AM 菌剂质量评估指标，但菌剂中主要成分并不是根段，主要是孢子。姚青等^[13]指出，菌剂有效成分有孢子、菌丝和菌根，但孢子由于其易操作性和可计数性，成为许多菌剂生产者的研究目标。周霞等^[14]研究表明，因为孢子生命力、侵染率均较菌丝强，且利于运输，应始终作为菌剂主要成分考虑。本试验中，3种宿主植物与矿区 AM 真菌均形成了良好共生关系，以紫花苜蓿为宿主时产孢量最高，孢子密度达 5.03 个/g。

相关性分析发现，孢子密度与定殖率、SDH 活性和宿主植物生长指标均无显著相关性，但孢子密度与总定殖率、菌丝定殖率、地上干质量和粗蛋白含量存在正相关性。郭辉娟等^[15]研究得出，AM 真菌孢子密度与侵染率正相关极显著。陈颖等^[16]研究显示，孢子密度与菌丝定殖率呈正相关，与孢囊定殖率呈负相关，但无显著相关性。陈宁等^[17]研究表明，孢子数和菌根侵染存在一定相关性($r=0.86$)，但不显著。可能是 AM 真菌菌种本身特异性和培养条件差异导致了不同的试验结果。

试验中选取的宿主均为常用牧草植物，究其原因：

(1)解决 AM 真菌繁殖后宿主植物去向问题，众多学者研究各种因素对 AM 真菌生长的影响，但都未涉及到宿主植物去向；(2)当前畜牧业发展迅速，对牧草产品的需求量不断增长，优质牧草无法满足市场需求。试验为牧草种植时应用生物菌剂提高产量和品质提供了参考资料。牧草主要食用部位是植物地上部分，地上部粗蛋白含量决定其品质，是反映牧草营养价值的重要指标^[18]。一般豆科牧草蛋白质含量为 18%~24%，禾本科干草为 13%~15%^[19]。试验中接种 AM 真菌后，3种宿主植物粗蛋白含量较未接种均有提高。

接种后紫花苜蓿、黑麦草和高丹草粗蛋白含量分别为 21.15%、8.60%和 6.20%，紫花苜蓿粗蛋白含量最高。黑麦草和高丹草低于禾本科干草粗蛋白含量，可能是试验后期宿主植物叶片有部分变干枯所致。

参考文献：

- [1] 李建华, 邵春花, 卢朝东, 等. 丛枝菌根和根瘤菌双接种对矿区土地复垦的生态效应[J]. 中国土壤与肥料, 2009(5): 77-80.
- [2] 田惠, 杜正茂, 许月明. 矿区经济转型期土地利用问题及破解途径分析——以石家庄市井陉矿区为例[J]. 中国农业资源与区划, 2009, 30(6): 29-34.
- [3] Dirk Redecker, Robin Kodner, Linda E Graham. Glomalean fungi from the Ordovician [J]. Science, 2000, 289 (5486): 1920-1921.
- [4] 毕银丽, 吴福勇, 武玉坤. 丛枝菌根在煤矿区生态重建中的应用[J]. 生态学报, 2005, 25 (8): 2068-2073.
- [5] Jennifer A White, Tallaksen J, Charvat I. The effects of arbuscular mycorrhizal fungal inoculation at a roadside prairie restoration site [J]. Mycologia, 2008, 100(1): 6-11.
- [6] 刘文科, 冯固, 李晓林. 三种土壤上六种丛枝菌根真菌生长特征和接种效应[J]. 植物营养与肥料学报, 2006, 12(4): 530-536.
- [7] Gerdemann J W, Nicolson T H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting [J]. Transactions of the British Mycological Society, 1963, 46(2): 235-244.
- [8] Phillips J M, Hayman D S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection [J]. Transactions of the British Mycological Society, 1970, 55 (1): 158-161.
- [9] Smith S E, Gianinazzi-Pearson V. Phosphate uptake and arbuscular activity in mycorrhizal *Allium cepa* L.: Effects of photon irradiance and phosphate nutrition [J]. Australian Journal of Plant Physiology, 1990, 17(2): 177-188.
- [10] Menge J A, Johnson E L V, Platt R G. Mycorrhizal dependency of several citrus cultivars under three nutrient regimes [J]. New Phytologist, 1978, 81(3): 553-559.
- [11] 毕银丽, 吴福勇, 全文智. 菌根与豆科植物组合在煤矿区废弃物的生态效应[J]. 中国矿业大学学报, 2006, 35(3): 329-335.
- [12] 王幼珊, 刘相梅, 张美庆, 等. 盆栽后处理、种植密度及农药对 AM 真菌生长繁殖的影响[J]. 华北农学报, 2002, 17 (1): 94-99.
- [13] 姚青, 胡又厘, 廖金才, 等. 宿主植物的栽培密度对 AM 真菌孢子产量的影响[J]. 华南农业大学学报, 2007, 28(1): 14-17.
- [14] 周霞, 崔明, 秦永胜, 等. 扩繁条件对 3 种丛枝菌根真菌 (AMF) 的影响[J]. 中国农学通报, 2012, 28(12): 83-87.
- [15] 郭辉娟, 王薇, 贺学礼. 宿主植物对黄芩根际土著丛枝菌根真菌生长发育的影响[J]. 河南农业科学, 2011, 40(12): 98-101, 105.
- [16] 陈颖, 贺学礼, 山宝琴, 等. 荒漠油蒿根围 AM 真菌与球囊霉素的时空分布[J]. 生态学报, 2009, 29(11): 6010-6016.
- [17] 陈宁, 王幼珊, 李晓林, 等. 宿主植物栽培密度对 AM 真菌生长发育的影响[J]. 菌物系统, 2003, 22(1): 88-94.
- [18] 胡振琪, 康惊涛, 魏秀菊, 等. 煤基混合物对复垦土壤的改良及苜蓿增产效果[J]. 农业工程学报, 2007, 23(11): 120-124.
- [19] 潘国艳, 欧阳竹, 李鹏. 华北平原主要优质牧草的种植模式与产业发展方向[J]. 资源科学, 2007, 29(2): 15-20.