

# 分根装置中接种 AMF 对 1 ~ 2 mm 土壤水稳性团聚体的影响

彭思利, 申鸿, 袁俊吉, 郭涛\*

(西南大学资源环境学院, 重庆 400716)

**摘要:** 采用分根装置研究了丛枝菌根真菌侵染白三叶草 (*Trifolium repens*) 后对中性紫色土 1 ~ 2 mm 土壤水稳性团聚体 (WSA<sub>1-2mm</sub>) 含量的影响, 并运用通径分析对其主要影响因子进行了量化比较。结果表明, 接种 *Glomus intraradices*、*G. mosseae* 和 *G. etunicatum* 的菌根室土壤有机质、球囊霉素相关土壤蛋白 (GRSP) 含量均有增加的趋势; 接种 3 种菌种都显著增加了菌根室土壤 WSA<sub>1-2mm</sub> 含量。通径分析结果表明, 菌丝密度对 WSA<sub>1-2mm</sub> 含量有较大的直接效应 (直接通径系数 0.678), 而 GRSP 对 WSA<sub>1-2mm</sub> 的影响系数较小, 既有直接效应又有间接效应, 但以直接效应为主。菌丝和 GRSP 对 1 ~ 2mm 土壤水稳性团聚体作用大小的差异可能源于二者作用机制的不同。

**关键词:** 菌丝; 球囊霉素相关土壤蛋白; 通径分析

中图分类号: S153.3; S154.3

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2010)06-1546-05

## Influence of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on 1 -2mm soil water stable aggregates in split root system

PENG Si-li, SHEN Hong, YUAN Jun-ji, GUO Tao\*

(College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400716, China)

**Abstract:** A split root device experiment was used to investigate the influence of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi inoculation on 1 -2 mm soil water stability aggregates (WSA<sub>1-2mm</sub>) in the neutral purple soil while white clover (*Trifolium repens*) as the host plants. The results show that compared with the non-mycorrhizal treatment, the contents of organic matter and glomalin related soil protein (GRSP) of mycorrhizal soil are slightly increased under the inoculation with *Glomus intraradices*, *G. mosseae* and *G. etunicatum*, while the WSA<sub>1-2mm</sub> contents of mycorrhizal soil are significantly increased. The results of path analysis indicate that the hyphae density has a high direct effect on WSA<sub>1-2mm</sub> (direct path coefficient is 0.678), GRSP has both direct and indirect effect, but through direct effect mainly. The different mechanism of these factors may account for the difference.

**Key words:** hyphae; glomalin related soil protein; path analysis

良好的土壤结构状况不仅要求有较多的土壤团聚体及适当的粒径分配, 还应有一定的稳定性, 尤其是水稳性, 才能使土壤多级孔隙状况得以保持, 在耕作、施肥、灌水、雨滴冲击等影响下不致迅速破裂而使土壤结构状况恶化<sup>[1]</sup>。水稳性团聚体的形成受多种因素影响, 各种生物、物理、化学的变化都会使他们的组成及含量发生变化<sup>[2]</sup>; 而 1 ~ 2 mm 水稳

性团聚体 (WSA<sub>1-2mm</sub>) 对短时期内外界条件变化的反应是较灵敏的<sup>[3]</sup>。已有研究表明, 土壤微生物特别是真菌对大团聚体的形成和稳定起重要作用<sup>[4]</sup>。丛枝菌根真菌 (Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) 作为多数生态系统中的一类重要的微生物<sup>[5]</sup>, 由于自身的一些结构和生理生化特点有利于土壤团聚体的形成和稳定<sup>[6]</sup>。

收稿日期: 2009-12-31 接受日期: 2010-05-05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (40701085) 资助。

作者简介: 彭思利 (1986—), 女, 重庆人, 硕士研究生, 主要从事土壤微生物研究。E-mail: dapeng19860503@163.com

\* 通讯作者 Tel: 023-68251249, E-mail: guotaosd@swu.edu.cn

在我们已往的研究中,利用中性紫色土作为植物的生长基质,接种丛枝菌根真菌后能够显著增加土壤中的团聚体含量和水稳性团聚体含量,提高了土壤结构的稳定性,但此研究是在盆栽条件下进行的,无法区分植物自身根系的作用和菌根共生体的作用;而 AMF 侵染宿主根系后引起的根系形态的变化,生理活动的改变,菌丝、球囊霉素相关土壤蛋白(Glomalin related soil protein, GRSP)等因素都会作用于土壤结构。因此,本研究采用了根际研究中常用的分根装置,一室接种 AMF,另一室不接种,区分植物根系、菌根对土壤结构的作用,重点比较菌丝和 GRSP 对粒径为 1~2 mm 水稳性土壤团聚体的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试植物为白三叶草 *Trifolium repens* Linn.

供试的 3 个 AM 菌种为 *Glomus mosseae*、*G. intraradices* 和 *G. etunicatum*,均来自中国农业大学资源环境学院,采用三叶草、玉米扩繁,接种剂含有 AMF 孢子、菌丝片段、侵染根段。

供试土壤为中性紫色土,采自重庆市北碚区西南大学后山农场。土壤为中生代侏罗系沙溪庙组灰棕紫色沙泥岩母质上发育的中性紫色土(紫色湿润锥形土),基本性状为 pH 7.1、有机质 10.79 g/kg、全氮 0.78 g/kg、全磷 0.82 g/kg、全钾 20.54 g/kg、碱解氮 28.34 mg/kg、有效磷 10.91 mg/kg、速效钾 53.2 mg/kg。土壤经风干后过 2 mm 筛,并用  $\gamma$  射线灭菌以去除土壤中的微生物。

### 1.2 试验设计

试验所用装置为隔板分室系统,采用 3 mm 厚的有机玻璃板加工而成。规格为宽×长×高(5+5)cm×10 cm×15 cm,分为左右两个室,左室为对照室,右室为接种室。中间有一层长 14 cm,宽 10 cm,厚 3 mm 的有机玻璃隔板。试验设置接种 3 种不同菌种的处理,5 次重复。

三叶草种子用 10% 的  $H_2O_2$  消毒 10 min,置于装有土:沙为 1:1 的培养盆中,并用沙覆盖,浇足水分使之发芽。育苗过程中随时补充盆中水分和养分,待三叶草长出 5~10 cm 的根系时进行分根。每盒共加已灭菌的土壤 2 kg,在接种室加入 100 g 接种剂,对照室加入 100 g 灭菌的接种剂。先分别加 0.25 kg 土壤置于两分室底,将三叶草苗的根系分成两部分分别置于两室中,然后在接种室加入与接种剂充分混合均匀的 0.5 kg 土壤,上面再加 0.25 kg 土壤。分别在两

室浇水 150 mL,每天利用称重法浇水补足水分。试验在西南大学植物营养培养内室进行,生物镱灯补充光照,人工控制光照时间(13 h/d)。

### 1.3 样品分析

盆栽 2 个月后收获,收获时样品地上部分和地下部分分开,菌根室和根室分开。分别拣出两个室中的根系,用水清洗干净,取一半根系剪成 1 cm 长根段,混匀后取鲜根约 1 g 测定根系侵染率。剩下的样品 105℃ 杀青 30 min 后 70℃ 烘干,用于生物量的测定。土壤样品风干备用。

土壤有机质含量的测定采用重铬酸钾外加热法( $K_2Cr_2O_7-H_2SO_4$  法);土壤团聚体的分布状况采用筛分法<sup>[7]</sup>。菌根侵染率采用方格交叉法测定<sup>[8]</sup>;菌丝密度的测定按照 Abbott 等人的方法进行<sup>[9]</sup>。

依据 Wright 等<sup>[10]</sup>的方法,测定土壤的总球囊霉素(TG)。称取 0.25 g 土壤加 2 mL 50 mmol/L 柠檬酸钠浸提剂(pH 8.0)在 121℃ 下提取 90 min,然后在 10000×g 下离心 6 min,移走上清液后,再加入等量的柠檬酸钠浸提剂在 121℃ 下提取 60 min,同前面一样的条件离心并移走上清液,重复操作,连续提取 5 次,每次的提取液收集起来后 10000×g 离心 10 min,上清液中的球囊霉素使用考马斯亮蓝法显色,牛血清蛋白作标准曲线。

应用 SPSS 软件对试验数据进行单因素统计分析和通径分析,LSD 多重比较检验各处理间的差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌根真菌侵染状况、土壤菌丝密度及植株生物量

表 1 表明,接种 AM 真菌的菌根室内植株根系均形成了菌根共生体,不接种的根室内未观察到根系被丛枝菌根真菌侵染。3 种菌种的侵染率均在 30% 以上。接种 *G. mosseae* 的菌根室菌丝密度显著高于接种 *G. intraradices* 和 *G. etunicatum* 的菌根室。接种 *G. etunicatum* 后的植株地上部干重显著低于其它处理的植株,比接种 *G. intraradices* 的处理的植株的地上部生物量减少 30%。所有的接种处理对根系生物量的影响差异不显著。

### 2.2 土壤有机质含量与 GRSP 含量

土壤有机质参与土壤结构的形成,有利于提高土壤结构的稳定性<sup>[11]</sup>。表 2 可知,菌根室有机质含量均有高于根室的趋势,其中,接种 *G. mosseae* 和 *G. etunicatum* 的菌根室有机质含量显著高于根室。接种 3 种菌种均有提高菌根室 GRSP 含量的趋势。

表 1 分根装置中接种菌根真菌的三叶草地上部、根系干重及菌根真菌侵染率  
Table 1 Shoot dry weight, root dry weight and frequency of mycorrhiza of non-mycorrhizal and mycorrhizal clover plants in the split-root system

| 接种处理<br>Mycorrhizal status           | 地上部干重(g)<br>Shoot dry weight | 根系干重(g)<br>Root dry weight | 侵染率(%)<br>Rate of inoculation | 菌丝密度(m/g)<br>Density of hyphae |
|--------------------------------------|------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| <i>G. intraradices</i> 根室 Roots room |                              | 0.554 ± 0.17 a             |                               |                                |
|                                      | 菌根室 Mycorrhizas room         | 5.80 ± 0.53 a              | 0.506 ± 0.09 a                | 38.0 ± 9.46 a                  |
| <i>G. mosseae</i> 根室 Roots room      |                              | 0.520 ± 0.12 a             |                               |                                |
|                                      | 菌根室 Mycorrhizas room         | 5.59 ± 0.19 a              | 0.496 ± 0.09 a                | 40.4 ± 8.42 a                  |
| <i>G. etunicatum</i> 根室 Roots room   |                              | 0.480 ± 0.09 a             |                               |                                |
|                                      | 菌根室 Mycorrhizas room         | 4.46 ± 0.29 b              | 0.516 ± 0.14 a                | 36.0 ± 8.94 a                  |

注( Note ): n = 5; 同列数据后不同字母表示差异达 5% 显著水平 Values followed by different letters in a column are significant at 5% level.

表 2 分根装置中土壤有机质、总球囊霉素土壤相关蛋白含量  
Table 2 Soil organic matter and total GRSP contents in the split-root system

| 接种处理<br>Mycorrhizal status           | 有机质含量(g/kg)<br>Organic matter content | 球囊霉素土壤相关蛋白含量(g/kg)<br>GRSP content |
|--------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|
| <i>G. intraradices</i> 根室 Roots room |                                       | 4.25 ± 1.03 a                      |
|                                      | 菌根室 Mycorrhizas room                  | 11.23 ± 1.61 a                     |
| <i>G. mosseae</i> 根室 Roots room      |                                       | 4.46 ± 0.15 a                      |
|                                      | 菌根室 Mycorrhizas room                  | 11.68 ± 1.28 a                     |
| <i>G. etunicatum</i> 根室 Roots room   |                                       | 4.99 ± 0.57 a                      |
|                                      | 菌根室 Mycorrhizas room                  | 10.71 ± 0.51 a                     |

注( Note ): n = 5; 同列数据后不同字母表示差异达 5% 显著水平 Values followed by different letters in a column are significant at 5% level.

2.3 1 ~ 2 mm 团聚体中水稳性团聚体的比例

土壤中团聚体总量包括非水稳性团聚体和水稳性团聚体。图 1 看出, 接种处理后菌根室 1 ~ 2mm 水稳性团聚体 (WSA<sub>1-2mm</sub>) 的含量均高于相应的根室。其中, 接种 *G. intraradices* 后两室 WSA<sub>1-2mm</sub> 含量

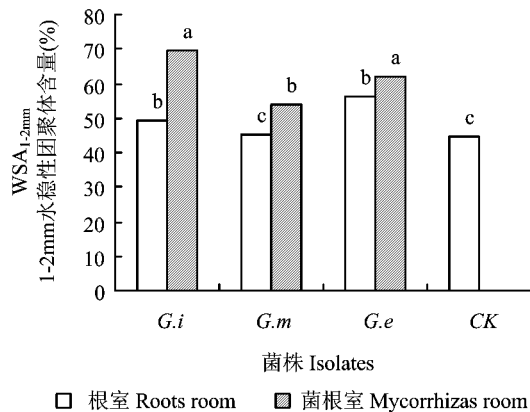


图 1 分根装置中 1 ~ 2 mm 团聚体中水稳性团聚体的含量  
Fig.1 The content of WSA<sub>1-2mm</sub> in the split-root system

[注( Note ): 柱上不同字母表示处理间差异达 5% 显著水平 Different letters above the bars mean significant at 5% level.]

相差最大, 菌根室比根室高出 41%。可以推断, 本试验条件下, 3 种菌根真菌均有利于 WSA<sub>1-2mm</sub> 的形成, 且以 *G. intraradices* 的效应更好。

2.4 通径分析

Jastrow 等人<sup>[12]</sup> 利用通径分析方法分析了根系、菌丝、微生物量碳、土壤有机碳等诸多因子在影响团聚体稳定性中的作用, 并说明了通径分析在丛枝菌根对土壤团聚体形成分析中的可行性。

统计分析结果显示, WSA<sub>1-2mm</sub> 与菌丝密度有极显著的相关关系, 与 GRSP 含量有显著的相关关系, 相关系数分别为 0.625 和 0.412。有机质与根系干重和菌丝密度也有极显著的相关关系, GRSP 与菌丝密度之间有显著的相关关系(表 3)。

将对水稳性团聚体的比例有显著相关的菌丝密度和 GRSP 含量进行通径分析显示, 菌丝密度与 WSA<sub>1-2mm</sub> 的直接相关系数为 0.678 \*\*, 接近菌丝密度与 WSA<sub>1-2mm</sub> 的相关系数 0.625, 因此可以认为菌丝密度主要是通过直接作用影响 WSA<sub>1-2mm</sub> 的形成。而 GRSP 对 WSA<sub>1-2mm</sub> 的直接通径系数为 0.222, 间接

表 3 变量之间的相关系数  
Table 3 Correlations coefficient between variables

| 变量<br>Variable | 球囊霉素土壤相关蛋白( $X_1$ )<br>GRSP | 有机质( $X_2$ )<br>Organic matter | 根系干重( $X_3$ )<br>Root dry wt | 菌丝密度( $X_4$ )<br>Density of hyphae | WAS <sub>1-2mm</sub><br>(Y) |
|----------------|-----------------------------|--------------------------------|------------------------------|------------------------------------|-----------------------------|
| $X_1$          | 1.00                        |                                |                              |                                    |                             |
| $X_2$          | 0.005                       | 1.00                           |                              |                                    |                             |
| $X_3$          | 0.238                       | 0.626**                        | 1.00                         |                                    |                             |
| $X_4$          | 0.350*                      | 0.587**                        | 0.598**                      | 1.00                               |                             |
| Y              | 0.412*                      | 0.258                          | 0.240                        | 0.625**                            | 1.00                        |

注(Notes): \* <5%; \*\* <1%.

通径系数为 0.093,说明 GRSP 对 WAS<sub>1-2mm</sub> 有直接和间接的效应,但以直接效应为主。

### 3 讨论

WAS<sub>1-2mm</sub> 数量的变化对短时间内 (<2 年) 外界因素的改变反应最为灵敏<sup>[3]</sup>。本研究看出,在分根装置中,相对于各自的不接种的对照处理,接种 3 种丛枝菌根真菌都显著增加了土壤中的 WAS<sub>1-2mm</sub> 数量。分根装置最初是用于作物养分和水分的研 究<sup>[13]</sup>,本试验利用此装置研究接种 3 种的菌根表明对宿主植物生物量无明显影响(表 1),可见丛枝菌根真菌侵染宿主植物后产生的一系列影响是引起上述土壤结构改变的原因。

土壤中的菌丝密度在 3~6 m/g 之间,远高于一般的根系长度,这种庞大的菌丝网络,影响着土壤中的碳循环<sup>[14]</sup>,因此菌丝密度与有机质含量有着极显著的相关性(表 3)。而菌丝直接参与土壤团聚体的形成和稳定过程是丛枝菌根真菌影响土壤结构的一个重要方面,菌丝将土壤彼此机械的缠绕在一起而形成团聚体<sup>[6]</sup>。统计分析表明,菌丝密度与 WAS<sub>1-2mm</sub> 有极显著的正相关关系( $r=0.625$ ),其对 WAS<sub>1-2mm</sub> 的形成主要表现为直接效应达 0.678,说明了根外菌丝通过物理缠绕作用直接参与了 WAS<sub>1-2mm</sub> 的形成,并增加了其稳定性。

GRSP 是由 AMF 产生的一种含金属离子的糖蛋白,理化性质特殊,可提高土壤肥力<sup>[15]</sup>。本研究中,接种 AMF 均有提高 GRSP 含量的趋势,这与 Bedini 等的研究结果一致<sup>[16]</sup>。GRSP 与 WAS<sub>1-2mm</sub> 呈显著的正相关,其对 WAS<sub>1-2mm</sub> 形成直接和间接的效应,但以直接效应为主。值得注意的是,通径分析表明,菌丝与 GRSP 对土壤 WAS<sub>1-2mm</sub> 作用及作用方式都不同,这主要源于菌丝和 GRSP 对水稳性团聚体作用

机制的不同。菌丝主要通过机械的网织、缠绕作用,形成大团聚体。而 GRSP 作用主要是其较其他土壤热水提取碳水化合物黏附土壤颗粒的能力强 3~10 倍<sup>[10]</sup>,这种很强的粘性,能够把小的土壤颗粒粘成直径 <0.25 mm 的微团聚体,表现出对粒径较小的团聚体形成和稳定作用<sup>[17]</sup>。因此,菌丝对 WAS<sub>1-2mm</sub> 的直接作用和总作用系数都高于 GRSP 对 WAS<sub>1-2mm</sub> 的相应的作用系数。

但是根据土壤结构分级理论,存在于大团聚体结构内的小团聚体势必会影响大团聚体的形成和稳定,因此 GRSP 对 WAS<sub>1-2mm</sub> 的作用分析也表现出一定的正的数值。另外 80% 的 GRSP 是吸附在菌丝表面<sup>[18]</sup>,因此 GRSP 对土壤结构的胶联作用有可能是建立在菌丝结构基础上的<sup>[19]</sup>,这也正是 GRSP 对 WAS<sub>1-2mm</sub> 形成有间接效应的原因。

本试验条件下,接种丛枝菌根真菌能够显著增加中性紫色土中对环境变化较敏感的 WAS<sub>1-2mm</sub> 含量,而且菌丝和 GRSP 由于其作用机制的不同,表现出不同的作用程度和方式。在进一步的研究中,需要验证更多的土壤类型对丛枝菌根真菌的反应,采取合适的试验方法定量菌丝和 GRSP 的作用,揭示丛枝菌根真菌侵染对土壤结构作用机制。

### 参 考 文 献:

- [1] Dexter A R. Advances in characterization of soil structure[J]. Soil Till. Res., 1988, 11: 199-238.
- [2] Bronick C J, Lai R. Soil structure and management: A review [J]. Geoderma, 2005, 124: 3-22.
- [3] Kemper W D, Rosenau R C. Aggregate stability and size distribution[A]. Klute A (ed.). Methods of soil analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods (2nd ed.) [M]. Madison, WI: Agron. Monogr. 9, ASA and SSSA, 1986. 425-442.
- [4] Guggenberger G. Microbial contributions to the aggregation of a cultivated grassland soil amended with starch[J]. Soil Biol.