

藏北高寒草原土壤活性有机碳对 AM 真菌物种多样性的影响

蔡晓布^{1,2}, 彭岳林², 盖京苹¹, 张俊伶^{1*}

(1. 中国农业大学资源与环境学院, 北京 100193; 2. 西藏农牧学院资源与环境学院, 林芝 860000)

摘要: 基于孢子形态学鉴定, 通过研究土壤活性有机碳 (ASOC) 质量分数对丛枝菌根真菌 (AMF) 物种多样性及侵染效应的影响, 为基于土壤环境调控的菌根生物技术的应用探寻新的途径和方法。结果表明, ASOC 质量分数在 0.30~0.80、0.81~1.40、1.41~4.00 g/kg 范围内, *Glomus* 属真菌对 AMF 的种群构成均具有重要作用, 且其影响随 ASOC 质量分数的增加而提高; 由 *Glomus* 属真菌构成的优势种, 特别是一些共有优势种对 AMF 的种群发育具有主导作用; ASOC 质量分数与孢子密度呈显著正相关, 较低的 ASOC 质量分数极显著促进了菌根侵染。从综合影响看, 调控 ASOC 质量分数至较低 (0.81~1.40 g/kg) 水平, 可能充分发挥 AMF 在高寒草原中的重要作用, 这为探寻适度的农业工程调控措施, 以强化 ASOC 对 AMF 物种多样性及菌根侵染的重要影响, 促进多菌种以及多优势种的协同作用, 稳定高寒草原环境提供了重要信息。

关键词: 土壤, 活性有机碳, 真菌, 物种多样性, 高寒草原, 藏北高原

doi: 10.3969/j.issn.1002-6819.2012.z1.037

中图分类号: S153.6; Q945

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2012)-Supp.1-0216-08

蔡晓布, 彭岳林, 盖京苹, 等. 藏北高寒草原土壤活性有机碳对 AM 真菌物种多样性的影响[J]. 农业工程学报, 2011, 28(增刊 1): 216-223.

Cai Xiaobu, Peng Yuelin, Gai Jingping, et al. Effect of ASOC on diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in alpine steppe of north Tibet[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2012, 28(Supp.1): 216-223. (in Chinese with English abstract)

0 引言

近年来, 基于土壤有机碳 (soil organic carbon, SOC) 对全球碳循环的重要影响, 许多学者从 SOC 储量变化与时空分布格局、耕作方式对 SOC 含量的影响^[1-4], 以及 SOC 与土壤微生物的关系^[5-7]等诸多层面开展了大量研究。丛枝菌根真菌 (arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) 对植物生态系统结构和稳定的重要作用主要体现于逆境中^[8], 这对青藏高原这种极为独特的、具有全球意义的脆弱生态系统更具重要意义。近年来, 国内外已有许多应用 AMF 改善或修复生态系统的成功范例^[9]。因此, 研究影响 AMF 群落构成的关键环境驱动因子, 对开发高效菌剂、探寻土壤环境的农业工程调控方法等均具有重要意义。已有的研究表明, SOC 与 AMF 彼此影响、相互作用。AMF 是土壤有机碳的重要来源之一, 其所分泌的球囊霉素对土壤有机碳、活性有机碳库具有重要贡献^[10-11]; 土壤有机碳则是对 AMF 物种多样性具有重要影响的环境因子之一^[9,12-13]。迄今为止, 国内外已就多个生态系统中 SOC 对 AMF 种群发育与分布、功能的影响等进行了大量研究, 但所得结论不一

致^[13-19], 尚存一些需要进一步深入探讨的问题^[12]。对西藏高原的相关研究亦表明, 不同生态区域 SOC 质量分数与 AMF 孢子密度和物种多样性的关系完全不同^[17-18]。可见, SOC 对 AMF 种群发育、分布和功能的影响较为复杂, 这不仅在于植物种类、环境因子等的综合影响, 亦可能与 SOC 不能很好地反映土壤质量的变化和转化速率^[20-21], 因而难以准确、客观地反映其对 AMF 物种多样性的影响有关。土壤活性有机碳 (active soil organic carbon, ASOC) 是土壤中有效性较高、对植物养分供应具直接作用的有机碳组分^[20-21], 其与土壤性质的关系比 SOC 密切, 对土壤环境的变化较为敏感^[20-21]。因此, 以其作为土壤环境指标, 能够更为准确、客观地反映土壤环境的变化^[20-21], 有助于进一步理解影响 AMF 种群分布与功能的环境因子及其作用, 有望为基于土壤环境调控的菌根生物技术的应用提供重要信息。高寒草原是青藏高原腹地最为重要的生态系统, 此环境中 ASOC 对 AMF 种群发育及菌根形成有何影响? 如何通过农业工程技术调控适于菌根发育的 ASOC 环境? 本研究以西藏高寒草原主要草地型为研究对象, 探讨了高原寒旱条件下 ASOC 质量分数对 AMF 物种多样性的影响及其相互关系, 以期探寻适度的草地土壤环境和 ASOC 水平的农业工程调控技术和方法提供依据, 对应用菌根生物技术实现高寒植被生态系统的维护和稳定具有重要的理论和实践意义。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况

藏北高原北部平均海拔 > 4 500 m, 属高原寒带干

收稿日期: 2011-06-28 修订日期: 2011-11-11

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41161043, 40961023, 40761015, 41071179)

作者简介: 蔡晓布 (1962-), 男, 教授, 主要研究方向为土壤生态、土壤生物。林芝 西藏农牧学院资源与环境学院, 860000。

Email: caitw21@sohu.com

*通信作者: 张俊伶 (1970-), 女, 博士、教授, 主要研究方向为菌根生态学。北京 中国农业大学资源与环境学院, 100193。

Email: junlingz@cau.edu.cn

旱、半干旱气候类型，年平均气温-1.2~3.0℃，全年无绝对无霜期，≥0年积温 800~1 100℃；年降水量 100~200 mm（暖季>90%），年蒸发量 2 000 mm 左右。草地类型主要为高寒草原（由多年生寒、旱生草本植物所构成），其主要草地型（草地型名即为建群植物名）分别为紫花针茅（*Stipa. purpurea*）、羽柱针茅（*Stipa subsessiliflora var. basiplumosa*）、昆仑针茅（*Stipa roborowskyi*）、沙生针茅（*Stipa glareosa*）草地型，局部偶见高寒草甸分布。由于植被垂直带谱及植被构成均极简单，目标植物在不同高寒草原草地型中均居绝对比重，并突出地表现为丛生^[22]，有利于目标植物带根土壤样品的采集。

1.2 研究方法

1.2.1 样品采集

在 2009 年 9 月进行采样，于图 1 所示区域(海拔 4 594~4 988 m)随机选择 3 处采样区，每一采样区面积约为 2 km²。各采样区成土母质均为湖积物，土壤类型均为高山草原土，土壤 pH 值 8.60~9.53，土壤质地为轻砂土~重砂土。样品采集前，于各采样区所分别选定的 9 个采样点铲除表层土壤 2 cm 后，按 2~10 cm 土层各采集 3 个宿主植物带根土样；将每一采样点 3 个宿主植物带根土样充分混匀，各组成 1 个带根混合土样（约 2.5 kg）。全部宿主植物带根混合土样为 27 个。其中，紫花针茅、羽柱针茅、沙生针茅带根混合土样均为 7 个，昆仑针茅为 6 个。

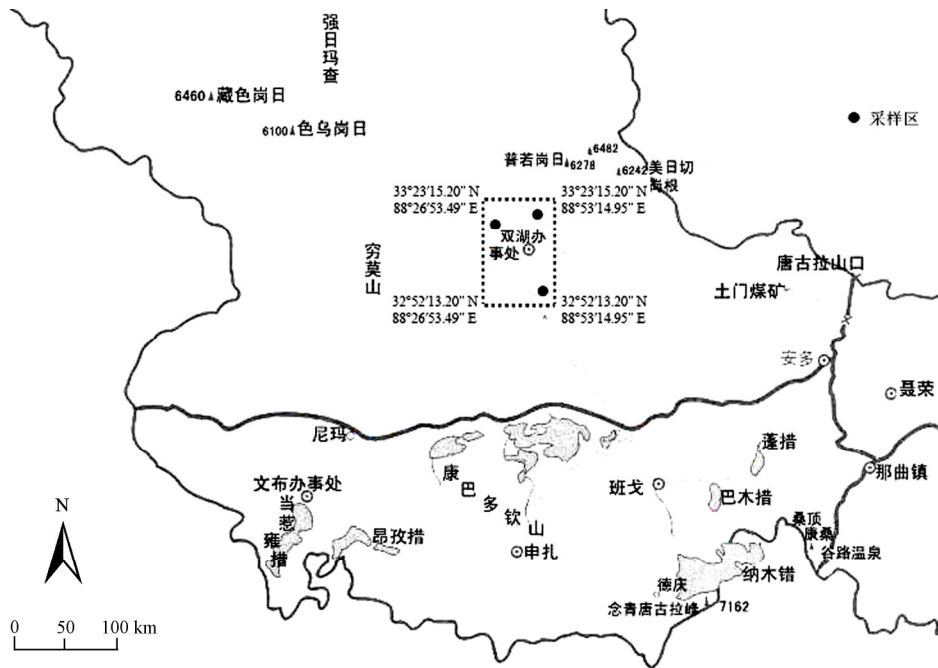


图 1 采样区域

Fig.1 Map of sampling zones

1.2.2 ASOC 测定

采用 KMnO₄ 氧化-分光光度计法测定 ASOC。

1.2.3 AM 真菌诱集培养与鉴定

将样品中的目标植物根系均匀剪成 0.5 cm 小段，并与土样充分混匀；分别将其与 120℃ 高压蒸汽灭菌 2.5 h 的风干低磷（P₂O₅ 质量分数 2.6 mg/kg）砂土（取自西藏农牧学院教学实习农场）按 1:1（v/v）再次充分混匀，置于以 30 μm 尼龙网垫底的消毒塑料盆（高 14.5 cm×宽 20.0 cm）中。之后，将已在体积分数 10%（v/v）的 H₂O₂ 中浸泡 10 min 并经去离子水冲洗的三叶草（*Trifolium pretense* L.）种籽播于盆内，进行 120 d 加富培养。培养全程室内温度为 20~25℃（未加辅助光）；隔日定量浇水，将土壤湿度控制在田间持水量的 60%~70%。诱集培养完成并风干 7 d 后，剪去植株地上部并去除表土 1 cm 后保存。30 d 后，分别取 100 g 混匀风干样品，采用湿筛倾析—蔗糖离心法筛取孢子，用微吸管挑取孢子于载玻片上（加 30% 甘油浮载剂封片），显微观测并记录孢子颜色和大小、连孢

特征，以及内含物、孢壁层次及各层颜色和孢壁厚度等。鉴定中辅助使用 Melzer's 试剂以观测孢子的特异性反应。综合以上观测结果，根据《VA 菌根真菌鉴定手册》^[23]及 INVNA(<http://invam.caf.wvu.edu/Myc-Info/>)的分类描述，并参阅有关鉴定材料和近年来发表的新种等进行属、种检索和鉴定（表 1）。其中，孢壁具有饰物而暂难确定的种为 *A. sp1*、*G. sp1*、*G. sp2*、*G. sp3*、*S. sp1*。

表 1 菌根际 ASOC 质量分数与 AM 真菌种的构成
Table 1 Rhizospheric ASOC mass fraction and species composition of AMF

AM 真菌种	ASOC 质量分数/(g·kg ⁻¹)		
	0.30~0.80	0.81~1.40	1.41~4.00
<i>A. laevis</i>	+	-	-
<i>A. sp1</i>	+	+	+
<i>G. aggregatum</i>	+	+	+
<i>G. claroidium</i>	+	+	+
<i>G. convolutum</i>	+	-	+

续表

AM 真菌种	ASOC 质量分数/(g·kg ⁻¹)		
	0.30~0.80	0.81~1.40	1.41~4.00
<i>G. dominikii</i>	+	+	+
<i>G. etunicatum</i>	+	+	+
<i>G. geosporum</i>	+	+	+
<i>G. mossea</i>	+	+	+
<i>G. verrisiforme</i>	+	+	+
<i>G. sp1</i>	+	+	+
<i>G. sp2</i>	+	+	+
<i>G. sp3</i>	-	+	+
<i>S. sp1</i>	-	+	-

注: +表示某 AM 真菌在该采样点出现; -表示某 AM 真菌在该采样点未出现。

1.2.4 宿主植物菌根侵染率等的测定

将根系从各土样中洗出, 剪成约 1 cm 长根段; 经 KOH-曲利苯蓝染色, 随机取 30 条根段制片, 于 200 倍显微镜下观测菌根侵染点、丛枝、泡囊、菌丝圈和无隔菌丝; 据 Trouvelot 等^[24]的方法, 按菌根侵染、丛枝丰度分级标准, 采用 MYCOCALC 软件计算菌根侵染率 (F, %)、菌根侵染强度 (M, %) 和丛枝丰度 (A, %)。

1.2.5 计算与数据处理

1) 孢子密度 (SD): 指每 100 g 风干根层土样中所有 AM 真菌种的孢子数/土壤样本数;

2) 种数 (SN): 指某生境中 AM 真菌的物种数。

3) 种的丰度 (SR): 指每一根层土样 (100 g) 所含 AM 真菌种的平均数, 即 $SR = \text{AM 真菌种出现总次数} / \text{土样数}$ 。

4) 物种多样性 (H): 采用 Shannon-Weiner 指数计算。假设有 1 个包含 N 个个体的随机样本, 其种 i 的个体数为 N_i , 则 $P_i = N_i / N$ 。故 H 可用下式估计:

$$H = -\sum_{i=1}^k (P_i \ln P_i)$$

式中, k 为某样点中 AM 真菌的种数,

P_i 为该样点 AM 真菌种 i 的孢子密度占该样点总孢子密度的百分比。

5) 物种均匀度 (J): 以均匀度指数 J 描述, 即 $J = H / \ln S$ 。其中, H 为 Shannon-Weiner 指数, S 为某采样区 AM 真菌的种类数目。

6) 分离频度 (F): 某 AM 真菌属或种在样本总体中的出现频率, 即 $F = \text{AM 真菌某属或种的出现土样数} / \text{总土样数} \times 100\%$ 。据此将 AM 真菌划分为 4 个优势度等级, 即分离频度 > 50% 为优势属、种, > 10% ~ ≤ 50% 为常见属、种, < 10% 为偶见属、种。

7) 相对多度 (RA): $RA = SD / \sum SD \times 100\%$ 。式中, SD 为某样点 AM 真菌某属 (种) 的孢子数, $\sum SD$ 为某样点 AM 真菌总孢子数。

8) 重要值 (I): 某采样点或某环境中 AM 真菌属 (种) 的分离频度、相对多度的平均值, 即 $I = (F + RA) / 2$ 。

2 结果与分析

2.1 土壤活性有机碳对 AMF 各属孢子密度、分离频度、相对多度和重要值的影响

在总 ASOC 质量分数 (0.30~4.00 g/kg) 和各级 ASOC 范围内, AMF 孢子密度与 ASOC 质量分数呈显著正相关, 孢子密度、分离频度、相对多度和重要值变化特征一致, 均呈 *Glomus* > *Acaulospora* > *Scutellospora* 属 ($p \leq 0.01$; 表 2)。同时, 随 ASOC 质量分数的增加, *Glomus* 真菌孢子密度显著提高 ($p \leq 0.05$), 相对多度和重要值上升幅度则很小, *Acaulospora* 属真菌则呈相反的趋势 (表 2)。可见, 不同 ASOC 质量分数条件下 *Glomus* 真菌均具较大优势, 相对较高的 ASOC 环境虽可显著促进 *Glomus* 属真菌的繁殖, 但重要值与较低 ASOC (< 1.40 g/kg) 比较差异不显著。因此, 调控 ASOC 质量分数至较低水平, 可充分发挥 AMF 在高寒草原环境中的重要性。

表 2 ASOC 质量分数对 AMF 各属孢子密度、分离频度、相对多度和重要值的影响

Table 2 Effect of ASOC mass fraction on spore density, isolation frequency, relative abundance and importance index of AMF genera in rhizosphere soil

	AMF 属	ASOC 质量分数/(g·kg ⁻¹)			
		0.30~4.00	0.30~0.80	0.81~1.40	1.41~4.00
孢子密度/ (cfu (100g) ⁻¹)	<i>Acaulospora</i>	3.33 ^B ± 2.46	3.15 ^{Ba} ± 1.63	0.11 ^{Bb} ± 0.08	0.07 ^{Bb} ± 0.07
	<i>Glomus</i>	158.18 ^A ± 65.43	32.07 ^{Ac} ± 10.41	57.85 ^{Ab} ± 21.36	68.26 ^{Aa} ± 27.16
	<i>Scutellospora</i>	0.15 ^C ± 0.15	-	0.15 ^B ± 0.15	-
分离频度/%	<i>Acaulospora</i>	37.04 ^B	77.78 ^A	22.22 ^B	11.11 ^B
	<i>Glomus</i>	100 ^A	100 ^A	100 ^A	100 ^A
	<i>Scutellospora</i>	3.70 ^C	-	11.11 ^B	-
相对多度/%	<i>Acaulospora</i>	2.06 ^B	8.94 ^B	0.19 ^B	0.11 ^B
	<i>Glomus</i>	97.85 ^A	91.06 ^A	99.56 ^A	99.89 ^A
	<i>Scutellospora</i>	0.09 ^C	-	0.25 ^B	-
重要值	<i>Acaulospora</i>	19.55 ^B	43.36 ^B	11.21 ^B	5.61 ^B
	<i>Glomus</i>	98.93 ^A	95.53 ^A	99.78 ^A	99.95 ^A
	<i>Scutellospora</i>	1.90 ^C	-	5.68 ^B	-

注: 平均值±标准差 ($p \leq 0.05$)。用 LSR 法计算处理间差异, 同行不同小写、同列不同大写字母分别表示差异显著性分别达 5%、1% 水平。

2.2 土壤活性有机碳对 AMF 物种多样性的影响

Shannon-Weiner 指数、物种均匀度指数表征着特定区

域 AMF 的物种多样性、AMF 对环境的适应能力及环境对 AMF 的影响程度。*Glomus* 属真菌对 AMF 种的丰度、

Shannon-Weiner 指数、物种均匀度指数具有很大贡献 (表 3)。总 ASOC 和不同 ASOC 质量分数范围, 种的丰度、Shannon-Weiner 指数、物种均匀度指数均呈 *Glomus* > *Acaulospora* > *Scutellospora* 属 ($p \leq 0.01$) 且 *Glomus* 真菌相关参数随 ASOC 质量分数的增加而呈不同程度的提高。但

在 ASOC 质量分数 0.81~1.40 g/kg 条件下, Shannon-Weiner 指数、物种均匀度指数与 ASOC 质量分数 1.41~4.00 g/kg 时均无显著差异 (表 3)。因此, ASOC 质量分数并非越高越好, 以较低 (0.81~1.40 g/kg) 时较为适宜, 这亦与该条件下 AM 真菌具有较高的重要值相吻合。

表 3 菌根际 ASOC 质量分数对 AMF 种的丰度、Shannon-Weiner 指数和物种均匀度指数的影响

Table 3 Effect of ASOC mass fraction on species richness, Shannon-Weiner index and species evenness index of AMF in rhizosphere soil

ASOC 质量分数/ (g·kg ⁻¹)	AMF 属	种的丰度	Shannon-Weiner 指数		均匀度指数	
0.30~4.00	<i>Acaulospora</i>	0.37 ^B ± 0.28	0.093 ^B	1.876	0.035 ^B	0.711
	<i>Glomus</i>	5.63 ^A ± 1.57	1.777 ^A		0.673 ^A	
	<i>Scutellospora</i>	0.04 ^C ± 0.04	0.006 ^C		0.002 ^C	
0.30~0.80	<i>Acaulospora</i>	0.78 ^B ± 0.52	0.088 ^B	0.801 ^b	0.034 ^B	0.304 ^b
	<i>Glomus</i>	5.33 ^A ± 0.24	0.713 ^A		0.270 ^A	
	<i>Acaulospora</i>	0.22 ^B ± 0.22	0.005 ^B		0.002 ^B	
0.81~1.40	<i>Glomus</i>	5.44 ^A ± 0.44	0.994 ^A	1.005 ^a	0.377 ^A	0.381 ^a
	<i>Scutellospora</i>	0.11 ^B ± 0.11	0.006 ^B		0.002 ^B	
	<i>Acaulospora</i>	0.11 ^B ± 0.11	0.004 ^B		0.001 ^B	
1.41~4.00	<i>Glomus</i>	6.11 ^A ± 0.61	1.035 ^A	1.039 ^a	0.392 ^A	0.393 ^a

注: 平均值±标准差 ($p \leq 0.01$)。用 LSR 法计算处理间差异, 同列不同大写、不同小写字母分别表示差异显著性达 1%、5%水平。

2.3 土壤活性有机碳对 AMF 优势种的影响

在试验条件下, 优势种对 AMF 种群构成和发育影响很大。从表 1 和表 4 可以看出, 总 ASOC、各级 ASOC 质量分数范围内, AMF 优势种均占很大比重, 分别达 42.9%和 50.0%~58.3%。从组成看, 各级 ASOC 质量分

数范围内, 均以 *G. claroideum*、*G. etunicatum*、*G. geosporum*、*G. sp1*、*G. sp2* 等共有优势种为主, 且多数优势种孢子密度随 ASOC 质量分数的提高而呈显著增加的趋势。但是, 各 ASOC 质量分数范围内, 不同优势种孢子密度明显不同 (表 4)。

表 4 ASOC 质量分数对 AMF 优势种孢子密度和重要值的影响

Table 4 Effect of ASOC mass fraction on spore density and importance index of dominant species of AMF in rhizosphere soil

AMF 种	ASOC 质量分数(g·kg ⁻¹)							
	0.30~4.00		0.30~0.80		0.81~1.40		1.41~4.00	
	孢子密度	重要值	孢子密度	重要值	孢子密度	重要值	孢子密度	重要值
<i>G. claroideum</i>	3.89 ± 0.91	28.99	1.37a ± 0.61	29.73 ^a	1.37a ± 0.70	28.96 ^a	1.15a ± 0.58	28.62 ^a
<i>G. etunicatum</i>	25.74 ± 4.56	52.41	5.30b ± 1.96	51.97 ^{ab}	9.48a ± 3.66	47.05 ^b	10.96a ± 4.46	58.02 ^a
<i>G. geosporum</i>	32.04 ± 7.60	45.10	5.85c ± 2.44	41.64 ^b	16.22a ± 7.40	52.85 ^a	9.96b ± 4.61	40.63 ^b
<i>G. mossea</i>	4.52 ± 0.85	32.88	1.48a ± 0.67	29.89	-	-	2.22a ± 0.77	46.07
<i>G. verrisiforme</i>	-	-	2.81b ± 1.63	31.78 ^a	6.26a ± 3.16	38.72 ^a	-	-
<i>G. sp1</i>	29.56 ± 8.63	44.33	5.22c ± 2.84	40.75 ^a	9.96b ± 5.38	41.91 ^a	14.37a ± 7.63	49.41 ^a
<i>G. sp2</i>	48.59 ± 17.47	53.92	8.04c ± 4.41	39.19 ^c	12.96b ± 7.36	50.05 ^b	27.59a ± 16.86	70.19 ^a

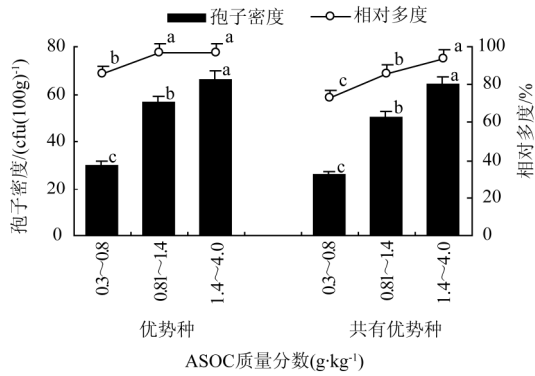
注: 平均值±标准差 ($p \leq 0.05$)。用 LSR 法计算处理间差异, 同类同行不同字母表示差异显著性达 5%水平。

明确不同 ASOC 质量分数条件下 AMF 优势种的特征对探寻适度的高寒草原农业工程调控方法具有重要的指导作用。不同 ASOC 质量分数范围内, AMF 优势种相对多度均占很大或绝对比重。各级 ASOC 质量分数范围, 随 ASOC 质量分数的增加, 优势种、共有优势种孢子密度均呈显著提高, 相对多度分别达 85.4%~97.0%、73.2%~93.7% (图 2)。可见, 不同 ASOC 质量分数范围, 优势种对 AMF 的种群发育具有主导作用, 共有优势种因其对土壤环境的较强适应性而显著影响着这一过程。

重要值是 AMF 孢子发育和分布状况的综合体现。高寒草原条件下, 各级 ASOC 质量分数范围内, 多数 AM 真菌共有优势种重要值差异不显著, 仅 *G. sp2* 重要值随 ASOC 质量分数的增加而呈显著提高 (表 4)。3 个 ASOC

质量分数范围, AM 真菌优势种平均重要值分别为 37.9、43.3 和 48.8, ASOC 质量分数 0.81~1.40 g/kg 条件下, 优势种平均重要值仅略低于最高水平。

各级 ASOC 质量分数条件下, AM 真菌种的丰度均无显著差异; ASOC 质量分数 0.81~1.40、1.41~4.00 g/kg 条件下, AMF 多样性指数、均匀度指数均显著高于 0.30~0.80 g/kg 范围 (表 5)。同时, 3 个 ASOC 质量分数范围, 优势种对 AMF 物种多样性的贡献分别达 80.6%、93.2%和 92.9%; 总 ASOC 质量分数范围内, 优势种对 AMF 物种多样性的贡献仅为 78.6% (表 3、表 5)。可见, 各级 ASOC 质量分数范围, 优势种对 AM 真菌的种群构成均具有重要作用, 在较高 ASOC 质量分数值条件下, 优势种的作用较为突出, 物种多样性亦较丰富。



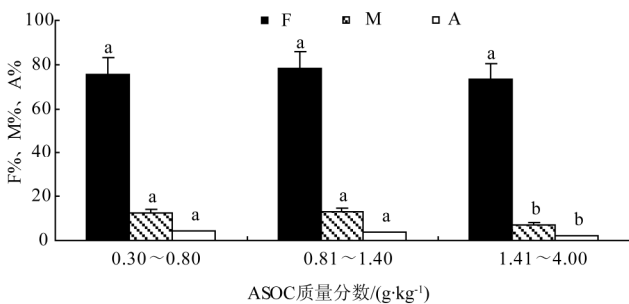
注：不同字母表示差异显著性达 5% 水平。

图 2 ASOC 质量分数对 AMF 优势种、共有优势种孢子密度、相对多度的影响

Fig.2 Effect of ASOC mass fraction on spore density, relative abundance of the dominant and common dominant species of AMF in rhizosphere soil

2.4 土壤活性有机碳对宿主植物菌根侵染率、侵染强度和丛枝丰度的影响

总 ASOC 质量分数内，侵染率、侵染强度和丛枝丰度分别为 75.7%、11.0% 和 3.4%，与图 3 结果基本一致。ASOC 质量分数 0.30~1.40 g/kg 范围，宿主植物菌根侵染率、侵染强度和丛枝丰度均无显著差异；当其质量分数增至 1.41~4.00 g/kg 时，侵染率下降 3.6%~6.9%，侵染强度、丛枝丰度则均呈显著下降（图 3）。



注：F、M、A 分别为侵染率、侵染强度和丛枝丰度；不同 ASOC 质量分数范围内不同字母表。

图 3 ASOC 对侵染率、侵染强度和丛枝丰度的影响

Fig.3 Effect of ASOC on mycorrhizal colonization rate, infection intensity and arbuscule richness

ASOC 对 AMF 孢子的繁殖与发育具有重要的促进作用，尽管在总 ASOC 范围内，孢子密度与菌根侵染率、侵染强度、丛枝丰度的相关性很低，但各级 ASOC 质量分数范围，AMF 孢子对菌根侵染的影响显著不同。ASOC 质量分数 0.30~0.80 g/kg 时，随菌根际孢子密度的增加，菌根侵染率、侵染强度、丛枝丰度均呈提高，孢子密度与侵染强度、丛枝丰度的决定系数 (R^2) 分别达 0.899、0.907（表 6），较低的孢子数量即可产生较好的侵染（表 2、图 3）效果；ASOC 质量分数达 0.81~1.40 g/kg 时，菌根侵染参数随孢子密度的增加均呈极显著 ($p \leq 0.01$) 提高，但决定系数已呈明显下降（表 6），相对较高的孢子数量维持着 AMF 对根系的较高侵染（表 2、图 3）；ASOC 质量分数 1.41~4.00 g/kg 条件下，侵染率有所下

降，侵染强度、丛枝丰度随孢子密度的增加均显著下降 ($p \leq 0.05$)（表 6、图 3）。

表 5 ASOC 质量分数对 AMF 优势种的丰度和 Shannon-Weiner 指数、物种均匀度指数的影响

Table 5 Effect of ASOC mass fraction on species richness, Shannon-Weiner index and species evenness index of dominant AMF in rhizosphere soil

ASOC 质量分数 (g·kg ⁻¹)	种的丰度	Shannon-Weiner 指数	均匀度指数
0.30~0.80	4.44 ± 0.93	0.646 ^b	0.245 ^b
0.81~1.40	4.22 ± 1.08	0.937 ^a	0.355 ^a
1.41~4.00	4.78 ± 1.52	0.965 ^a	0.366 ^a
0.30~4.00	4.26 ± 1.58	1.475	0.559

注：平均值±标准差 ($p \leq 0.05$)。用 LSR 法计算处理间差异，同列不同字母表示差异显著性达 5% 水平。

表 6 不同 ASOC 质量分数范围孢子密度与侵染率、侵染强度和丛枝丰度的相互关系

Table 6 Correlations between spore density and mycorrhizal colonization, infect intensity and arbuscule richness at different ASOC mass fractions

ASOC 质量分数 (g·kg ⁻¹)	侵染率	侵染强度	丛枝丰度
0.30~0.80	$y=2.891x+64.442$ $R^2=0.085$	$y=4.975x-6.859$ $R^2=0.899$	$y=2.384x-5.051$ $R^2=0.907$
0.81~1.40	$y=2.058x+64.856$ $R^2=0.538$	$y=1.314x+4.736$ $R^2=0.562$	$y=0.553x+0.431$ $R^2=0.615$
1.41~4.00	$Y=-1.713x+86.142$ $R^2=0.293$	$y=-0.493x+10.592$ $R^2=0.318$	$y=-0.149x+3.091$ $R^2=0.255$

注：直线回归方程中 x 、 y 分别代表孢子密度和菌根侵染状况， R^2 表示决定系数。

3 讨论

3.1 ASOC 与 AMF 物种多样性

藏北高寒草原不同 ASOC 环境中 AMF 特有种少、共有种和优势种（均由 *Glomus* 属构成）多、优势种种类差异很小的种群分布特征，既与研究区恶劣的土壤环境、极为简单的植被类型^[22]对 AMF 种群发育的不利影响有关，亦反映了 AMF 依靠多菌种、多优势种协同以适应极端寒旱环境，以及草地生态系统较少受人类干扰等重要特点。

有关 SOC 与 AMF 的研究表明，SOC 质量分数对 AMF 特定种的影响较大，对属的分布影响较小^[9,14]；一定范围内 SOC 质量分数越高，AMF 属、种越多，各属出现频率亦呈不同程度的增加；当超过一定范围，AMF 数量、各种出现频率即随 SOC 质量分数的增加而呈下降趋势^[9]。本研究中，ASOC 对 AMF 属、种分布的影响则有所不同。ASOC 质量分数 0.81~1.40 g/kg 范围内，AMF 由 3 属构成，超过此范围则仅见 *Glomus*、*Acaulospora* 属；不同 ASOC 质量分数范围，AMF 种数相同，且共有种所占比例很大；随 ASOC 质量分数的增加，*Glomus* 属分离频率均为 100%，*Acaulospora* 属呈显著下降，各种出现频率在总体上则呈较为明显的提高。

本研究中，土壤 pH 值、有效磷与孢子数量、菌根侵染均无显著相关，ASOC 则显著或极显著的影响着 AMF 的发育、分布与侵染。不同 ASOC 质量分数条件下，*Glomus* 真菌在 AMF 种群构成中的地位和作用均极为突

出, 其种数、相对多度决定着物种多样性。

有关统计表明^[12], 农田、草原、森林等 10 类生态系统中 AMF 优势种仅为 1~3 种, Shannon-Weiner 指数在 1.67~2.75 之间。高寒草原则明显不同, 呈现出多优势种(6~7 种)、低 Shannon-Weiner 指数值的重要特征。

3.2 ASOC 与菌根侵染效应

受多个外界条件的影响, SOC 与孢子密度、菌根侵染效应的关系较为复杂, 研究结果不一(正相关^[16-17]或负相关^[14,18-19])。本研究中, ASOC 质量分数与孢子密度则呈显著正相关。不同 ASOC 质量分数条件下, 菌根侵染效应的差异可能与不同 ASOC 水平对 AMF 孢子发育和侵染的影响有关。其一、ASOC 包括各类土壤微生物及其分泌物^[20], 具有较高的潜在生物活性^[21], 可能对 AMF 孢子发育、侵染具有不同的影响; 其二、AMF 孢子和菌丝上、细胞内存在大量以细菌、放线菌为主的伴生微生物^[25-26]。而对 AMF 伴生细菌的研究发现, 其与 AMF 间可能存在营养、空间的竞争^[26]或互惠关系^[27], 可能对 AMF 的生命过程具有不同的重要影响。现已证实, 伴生细菌是影响 AMF 孢子萌发的重要因子之一^[28]。据此推测, ASOC 质量分数 0.30~1.40 g/kg 范围, 无论孢子数量和物种多样性值大小, AMF 与伴生微生物间可能存在着有助于显著提高菌根侵染的互惠关系; 而较高 ASOC 质量分数(1.41~4.00 g/kg) 时, AMF 的伴生微生物则可能由于获得了更多的营养而大量繁殖, 从而显著抑制了 AMF 对根系的侵染。

3.3 以 ASOC 作为 AMF 物种多样性研究指标的探讨

土壤碳库容量的变化主要发生于土壤活性有机碳库, ASOC 表征着土壤物质循环的特征^[20,23]。高寒草原 SOC 的形成与转化极为缓慢, 且难以调控。从 AMF 对宿主植物的影响看, 菌根发育状况是衡量其地位和作用的关键。同时, 独特的植物种类和特殊生态条件的长期影响, 是 AMF 演化为各自不同的优势种群的重要前提, 而从该种群中选择具有一定特殊抗逆功能的菌株即是可行而必要的^[12]。藏北高寒草原 ASOC 质量分数 0.80~1.40 g/kg 条件下, 孢子密度、物种多样性值较大, 菌根侵染相对较好; 0.30~0.80 g/kg 范围, 尽管孢子密度、Shannon-Weiner 指数值显著降低, 但寄主植物仍具较好的侵染结构。这为通过农业工程措施适度调控 ASOC 质量分数, 进而寻求提高高寒草原菌根潜在效应的途径提供了依据。

4 结 论

1) 高寒草原环境中, 土壤活性有机碳对丛枝菌根真菌物种多样性具有重要影响。总土壤活性有机碳、不同土壤活性有机碳环境中多优势种、低物种多样性值的研究结果, 既反映了高原寒旱环境对丛枝菌根真菌物种多样性的不利影响, 亦体现了多菌种、多优势种协同以适应极端环境的重要特征。

2) 不同土壤活性有机碳环境, 优势种对丛枝菌根真菌的种群发育均具主导作用, 而其中的共有种则在不同

土壤活性有机碳环境中显著地影响着这一过程, 且其影响随土壤活性有机碳质量分数的增加而提高。从 ASOC 质量分数调控对高寒草原环境、AM 真菌物种多样性所产生的综合影响看, ASOC 质量分数以 0.81~1.40 g/kg 时较为适宜。

3) 以基于分级的土壤活性有机碳作为评价指标, 对探寻适度的草地土壤环境和土壤活性有机碳水平的农业工程调控技术和方法, 进而开展菌根生物技术的规模化应用具有重要的理论和实践意义。

[参 考 文 献]

- [1] 揣小伟, 黄贤金, 赖力, 等. 基于 GIS 的土壤有机碳储量核算及其对土地利用变化的影响[J]. 农业工程学报, 2011, 27(9): 1-6.
Chuai Xiaowei, Huang Xianjin, Lai Li, et al. Accounting of surface soil carbon storage and response to land use change based on GIS[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2011, 27(9): 1-6. (in Chinese with English abstract)
- [2] 吕贻忠, 廉晓娟, 赵红, 等. 保护性耕作模式对黑土有机碳含量和密度的影响[J]. 农业工程学报, 2010, 26(11): 163-169.
Lü Yizhong, Lian Xiaojuan, Zhao Hong, et al. Effects of conservation tillage patterns on content and density of organic carbon of black soil[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2010, 26(11): 163-169. (in Chinese with English abstract)
- [3] 石彦琴, 高旺盛, 陈源泉, 等. 耕层厚度对华北高产灌溉农田土壤有机碳储量的影响[J]. 农业工程学报, 2010, 26(11): 85-90.
Shi Yanqin, Gao Wangsheng, Chen Yuanquan, et al. Effect of topsoil thickness on soil organic carbon in high-yield and irrigated farmland in North China[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2010, 26(11): 85-90. (in Chinese with English abstract)
- [4] 张春华, 王宗明, 任春颖, 等. 松嫩平原玉米带农田土壤有机碳时空格局[J]. 农业工程学报, 2010, 26(增 1): 300-307.
Zhang Chunhua, Wang Zongming, Ren Chunying, et al. Spatial and temporal dynamics of organic carbon in agricultural soils of Songnen Plain maize belt[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2010, 26(Supp.1): 300-307. (in Chinese with English abstract)
- [5] Duponnois R, Plenchette C. A mycorrhiza helper bacterium enhances ectomycorrhizal and endomycorrhizal symbiosis of Australian *Acacia* species[J]. Mycorrhiza, 2003, 13(2): 85-91.
- [6] Artusson V, Finlay R D, Jansson J K. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth[J]. Environmental Microbiology, 2006, 8(1): 1-10.

- [7] Roesti D, Ineichen K, Braissant O, et al. Bacteria associated with spores of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus geosporum* and *Glomus constrictum*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(11): 6673—6679.
- [8] Van der Heijden M G A, Wiemken A, Sanders I R. Different arbuscular mycorrhizal fungi alter coexistence and resource distribution between co-occurring plant[J]. New Phytologist, 2003, 157(3): 569—578.
- [9] Comis D. Glomalinal: Hiding place for a third of the world's stored soil carbon[J]. Australia Farm Journal, 2004, 14(4): 64—66.
- [10] Rillig M C, Ramsey P W, Morris S, et al. Glomalinal, an arbuscular-mycorrhizal fungal soil protein to land-use change[J]. Plant and Soil, 2003, 253(2): 293—299.
- [11] 刘润进, 李晓林. 丛枝菌根及其应用[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 1—169.
- [12] 刘润进, 焦惠, 李岩, 等. 丛枝菌根真菌物种多样性研究进展[J]. 应用生态学报, 2009, 20(9): 2301—2307.
Liu Runjin, Jiao Hui, Li Yan, et al. Research advances in species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2009, 20(9): 2301—2307. (in Chinese with English abstract)
- [13] 李岩, 焦惠, 徐丽娟, 等. AM 真菌群落结构与功能研究进展[J]. 生态学报, 2010, 30(4): 1089—1096.
Li Yan, Jiao Hui, Xu Lijuan, et al. Advances in the study of community structure and function of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(4): 1089—1096. (in Chinese with English abstract)
- [14] 盖京苹, 刘润进. 土壤因子对野生植物 AM 真菌的影响[J]. 应用生态学报, 2003, 14(3): 470—472.
Gai Jingping, Liu Runjin. Effects of soil factors on arbuscular mycorrhizae(AM) fungi around roots of wild plants[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2003, 14(3): 470—472. (in Chinese with English abstract)
- [15] Muthukumar T, Udaiyan K. Influence of organic manures on arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Vigna unguiculata* (L.) Walp. in relation to tissue nutrients and soluble carbohydrate in roots under field conditions[J]. Biology and Fertility of Soils, 2000, 31(2): 114—120.
- [16] 包玉英. 内蒙古草原和荒漠丛枝菌根共生多样性及其生态分布[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2004.
Bao Yuying. Diversity and Ecological Distribution of Arbuscular Mycorrhizal Association in the Grassland and Desert of Inner Mongolia[D]. Huhehaote: Inner Mongolia Agricultural University, 2004. (in Chinese with English abstract)
- [17] 彭岳林, 杨敏娜, 蔡晓布. 西藏高原针茅草地土壤因子对 AM 真菌物种多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2010, 21(5): 1258—1263.
Peng Yuelin, Yang Minna, Cai Xiaobu. Influence of soil factors on species diversity of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in Stipa steppe of Tibet Plateau[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2010, 21(5): 1258—1263. (in Chinese with English abstract)
- [18] 蔡晓布, 彭岳林, 冯固, 等. 西藏高原草地植物 AM 真菌多样性及其环境影响因子研究[J]. 土壤学报, 2005, 42(4): 642—651.
Cai Xiaobu, Peng Yuelin, Feng Gu, et al. Effect of environmental factors on biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in alpine grassland in Tibet[J]. Acta Pedologica Sinica, 2005, 42(4): 642—651. (in Chinese with English abstract)
- [19] 冀春花, 张淑彬, 盖京苹, 等. 西北干旱区 AM 真菌多样性研究[J]. 生物多样性, 2007, 15(1): 77—83.
Ji Chunhua, Zhang Shubin, Gai Jingping, et al. Arbuscular mycorrhizal fungal diversity in arid zones in northwestern China[J]. Biodiversity Science, 2007, 15(1): 77—83. (in Chinese with English abstract)
- [20] 吕贻忠, 李保国. 土壤学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- [21] 王清奎, 汪思龙, 冯宗炜, 等. 土壤活性有机质及其与土壤质量的关系[J]. 生态学报, 2005, 25(3): 513—519.
Wang Qingkui, Wang Silong, Feng Zongwei, et al. Active soil organic matter and its relationship with soil quality[J]. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(3): 513—519. (in Chinese with English abstract)
- [22] 西藏自治区土地管理局. 西藏草地资源[M]. 北京: 科学出版社, 1994.
- [23] Schenck N C, Pérez Y. Manual for Identification of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi (2nd edition)[M]. Gainesville: INVAM University of Florida, 1988: 1—137.
- [24] Trouvelot A, Kough J L, Gianiazzi-Pearson V. Measurement of VA mycorrhiza system: Methods of the estimation of its function[C]// Gianiazzi-Pearson V, Gianiazzi S. Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. Paris: INRA Press, 1986: 217—221.
- [25] Hijiri M, Redecker D, Petetot JAM-C, et al. Identification and isolation of two ascomycete fungi from spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Scutellospora castanea*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(9): 4567—4573.
- [26] Xavier L J C, Germida J J. Bacteria associated with *Glomus clarum* spores influence mycorrhizal activity[J]. Soil Biology and Biochemistry[J]. 2003, 35(3): 471—478.
- [27] Andrade G, Linderman R G, Bethlenfalvay G J. Bacterial associations with the mycorrhizosphere and hyphosphere of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*[J]. Plant and Soil, 1998, 202(1): 79—87.
- [28] 龙良鲲, 姚青, 艾云灿, 等. 丛枝菌根真菌伴生细菌的研究进展[J]. 生态学报, 2007, 27(12): 5345—5351.
Long Liangkun, Yao Qing, Ai Yuncan, et al. Advance in researches on bacteria associated with arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Acta Ecologica sinica, 2007, 27(12): 5345—5351. (in Chinese with English abstract)

Effect of ASOC on diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in alpine steppe of north Tibet

Cai Xiaobu^{1,2}, Peng Yuelin², Gai Jingping¹, Zhang Junling¹

(1. College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China;

2. Department of Resources and Environmental Sciences, Tibet Agricultural and Animal Husbandry College, Linzhi 860000, China)

Abstract: Spore identification technique was employed to understand the effect of active soil organic carbon (ASOC) on the biodiversity and colonization indices of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). The results showed that within ASOC mass fraction ranges, *Glomus* had significant effect on community composition of AMF and the effect was enhanced with the increase of ASOC. Dominant species (in particular some co-occurring dominant species played an important role in community structure of AMF. ASOC mass fraction was positively correlated with spore density, and the colonization intensity and arbuscule richness were increased at the lower and intermediate ASOC mass fractions. The overall effect of AMF was great at lower ASOC level (0.81~1.40 g/kg). Our results indicate the application of AMF may have great potential in alpine steppe at lower ASOC level. This provides important information for developing suitable agricultural engineering techniques and methods to reinforce the effect of ASOC on biodiversity and infection intensity of AMF, and to increase the synergetic effects among multiple mycorrhizal species and dominant species. The result is of great significance for the sustainability of the alpine grasslands.

Key words: soils, organic carbon, fungi, species diversity, Alpine steppe, North Tibet