

不同生态条件下油松 (*Pinus tabulaeformis*) 菌根根际土壤微生物群落

张海涵¹, 唐 明^{2,*}, 陈 辉², 杜小刚², 郑 华³

(1. 西北农林科技大学生命科学学院, 陕西杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学林学院, 陕西杨凌 712100;
3. 中国科学院生态环境研究中心城市与区域生态国家重点实验室, 北京 100085)

摘要:利用 BIOLOG 代谢指纹方法分析了陕南商南和陕北安塞不同生态条件下油松菌根根际土壤微生物群落。结果表明, 安塞油松和商南油松菌根根际微生物对糖类和氨基酸类碳源较易利用, 商南油松菌根根际微生物总体上代谢碳源的种类和活性远大于安塞油松, 而且对同类碳源的代谢商南油松的 AWCD 比安塞油松均高出 2 倍多。安塞油松菌根根际微生物以氨基酸类代谢群为优势类群, 商南油松以糖类代谢群为优势类群。微生物群落多样性指数和微生物群落主成分分析 (PCA) 指标均表明商南油松和安塞油松菌根根际土壤微生物群落有明显不同, 起分异作用的碳源主要为糖类, 其次是羧酸类和氨基酸类。商南油松菌根根际土壤微生物群落 AWCD 极显著高于安塞油松 ($P < 0.01$), 细菌数量显著高于安塞油松 ($P < 0.05$), Shannon 指数和丰富度指数达极显著性差异 ($P < 0.01$), 商南油松和安塞油松菌根侵染率差异不显著, 但菌根生物量差异达极显著水平 ($P < 0.01$)。相关性分析表明, 菌根生物量与丰富度指数、AWCD 呈极显著正相关, 与 Shannon 指数呈显著正相关, 但是与菌根侵染率相关性不显著。在商南温暖潮湿丘陵区油松菌根根际微生物活性、群落大小和多样性高于安塞油松, 在安塞黄土高原干旱区微生物群落稳定性强于商南油松。

关键词:油松; 菌根根际; 外生菌根生物量; 土壤微生物群落

文章编号: 1000-0933(2007)12-5463-08 中图分类号: Q938.1 文献标识码: A

Microbial communities in *Pinus tabulaeformis* mycorrhizosphere under different ecological conditions

ZHANG Hai-Han¹, TANG Ming^{2,*}, CHEN Hui², DU Xiao-Gang², ZHENG Hua³

1 College of Life Sciences, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

2 College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

3 State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(12): 5463 ~ 5470.

Abstract: BIOLOG Metabolic Fingerprinting was adopted to study microbial communities in *Pinus tabulaeformis* mycorrhizosphere under two different ecological conditions of Shangnan in South Shaanxi and Ansai in North Shaanxi. The results revealed that the microbes in *P. tabulaeformis* mycorrhizosphere were more liable to utilize such carbon sources as carbohydrates and amino acids in Ansai and Shangnan, and the number and activity of metabolic carbon sources for the

基金项目:国家自然科学基金重点资助项目(30630054); 长江学者和创新团队发展计划资助项目(IRT0748)

收稿日期:2007-05-08; **修订日期:**2007-10-26

作者简介:张海涵(1981~), 男, 陕西户县人, 硕士生, 主要从事应用微生物研究. E-mail: haihanzhang2005@126.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: tangmingyl@163.com

Foundation item: The project was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30630054), Program for Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University (No. IRT0748)

Received date: 2007-05-08; **Accepted date:** 2007-10-26

Biography: ZHANG Hai-Han, Master candidate, mainly engaged in applied microbiology. E-mail: haihanzhang2005@126.com

microbes in *P. tabulaeformis* mycorrhizosphere were higher in Shangnan than in Ansai, and that the average well color development (AWCD) of microbes in the metabolism of same kinds of carbon sources in Shangnan sample was more than two times as much as that in Ansai. The dominant microbe species in *P. tabulaeformis* mycorrhizosphere in Ansai were the ones that metabolized amino acids. In contrast, the dominant microbe species in Shangnan sample were the ones that metabolized carbohydrates. The microbial community diversity indices and principal component analyses demonstrated that the significant difference between two samples mainly depended on carbohydrate-dominated carbon sources and secondarily on carboxylic acids and amino acids as the last. AWCD of microbial communities from Shangnan sample was significantly higher than that in Ansai ($P < 0.01$). The quantity of the bacteria was significantly higher in Shangnan compared to in Ansai ($P < 0.05$). The Shannon and the richness indices of the microbial community in samples from two places were significantly different ($P < 0.01$). There was no significant difference observed between the infection rates but extremely significant difference between the ectomycorrhizal biomasses in the two samples ($P < 0.01$). Correlation analysis showed that the ectomycorrhizal biomasses were positively related to the Shannon index ($P < 0.05$), (AWCD) ($P < 0.01$), and richness index ($P < 0.01$). The activity, community size and diversity of microbes in *P. tabulaeformis* mycorrhizosphere were higher in warm, humid hilly regions of Shangnan than in Ansai, and the microbial communities in *P. tabulaeformis* mycorrhizosphere were more stable in dry region of the Loess Plateau in Ansai than in Shangnan.

Key Words: *Pinus tabulaeformis*; mycorrhizosphere; ectomycorrhizal biomass; soil microbial community

油松(*Pinus tabulaeformis*)可与多种外生菌根真菌形成菌根,耐干旱、贫瘠、适应性强,是干旱半干旱区先锋造林树种。因此,研究油松菌根根际微生物群落多样性对揭示菌根真菌和菌根根际微生物的相互作用促进油松生长有重要意义。BIOLOG 检测法是一种通过测试微生物对单一碳源利用程度,反映微生物群体水平的生理轮廓(Community Level Physiological Profiles, CLPPs)以及描述微生物群落功能多样性的分析方法^[1]。Garland 和 Mills 首次将这种方法应用于土壤微生物群落的研究^[2],此后该方法在研究不同土壤类型和不同植被类型根际土壤的微生物群落结构及其多样性方面发挥了越来越重要的作用。Grayston 研究表明不同树种对土壤微生物群落有影响^[3]。Selmants 等^[4]运用 BIOLOG ECO 板研究认为固氮树种美国赤杨(*Alnus rubra*)能够改变土壤微生物群落代谢多样性。Grayston 和 Prescott 通过微生物群落水平的生理轮廓(CLPPs)研究了哥伦比亚海岸 4 种林木土壤微生物群落结构多样性^[5]。郑华等^[6]研究了中国南方红壤丘陵区退化生态系统土壤微生物群落,认为天然次生林土壤微生物群落多样性高于人工林和荒地,自然恢复更有利于改善土壤微生物的结构和功能。但是关于油松菌根根际微生物群落的研究却鲜见报道,本文采用 BIOLOG 检测法研究不同生态条件下油松菌根根际微生物群落多样性,为揭示菌根-土壤微生物-植物互作机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究地区概况

采样地分别为陕南商南县城关镇和陕北安塞县中国科学院水土保持实验站。陕南商南县城关镇,东经 110°25',北纬 33°15',海拔 620 ~ 650 m,属北亚热带和暖温带半湿润季风气候,年均降雨量 900 ~ 1200 mm,年均气温 13 °C。处于川道丘陵区,油松是该区域典型的地带性树种;陕北安塞县中国科学院水土保持实验站纸坊沟流域,东经 109°16',北纬 36°46',流域面积 8.27 km²,海拔 1010 ~ 1431 m,属暖温带半干旱气候,年均降雨量 549.1 mm,多集中在 7 ~ 9 月份,年均气温 8.8 °C。该流域沟壑纵横,植被稀疏,主要有油松(*Pinus tabulaeformis*)、刺槐(*Robinia pseudoacacia*)、柠条(*Caragana microphylla*)等。

1.2 样品采集

在陕南和陕北 22 年生油松纯林,采集 0 ~ 20 cm 深的细根和根际土样,每个处理随机选取 5 棵树,每棵树选 3 个取样点,将得到的 15 份样品充分混合,每处理设 3 个重复,除去表面可见的土壤动物和植物残体,轻轻抖落附在根上的土壤,剪取带有细根的根系,分成 2 份,其中一份将根系洗净后装入盛有福尔马林-醋酸-乙醇

(FAA)固定液的小瓶中,用于菌根侵染率测定;另外一份装入无菌自封袋用于群落分析。将剩下的根系和土壤在无菌自封袋中轻轻抖动大约 1 min,作为根际土^[7],用于土壤理化性质测定,置于小冰箱内,带回实验室,4 ℃保存备用。采样于 2006 年 11 月进行。油松立地条件和土壤基本状况见表 1。

表 1 油松立地条件和土壤基本状况

Table 1 The area conditions of *Pinus tabulaeformis* and basic parameter of soils

样地* Plots	海拔 Elevation(m)	坡度 Slope(°)	胸径 Diameter(cm)	土壤类型 Soil types	土壤 pH Soil pH	土壤含水量 Water content (%)
SNP	635	15 ~ 20	15.6	沙石土	6.70	10.3
ASP	1221	25 ~ 28	14.5	黄绵土	8.01	5.7

* SNP: 商南油松, ASP: 安塞油松, 下同 * SNP: Shangnan *Pinus tabulaeformis*, ASP: Ansai *Pinus tabulaeformis*, the same below

1.3 实验方法

1.3.1 土壤 pH 和含水量测定

用 PHS-3B 型精密 pH 计测定土壤 pH 值(水土比为 5:1)。称取 10.0g 新鲜土壤放入铝盒中,在 105 ℃干燥至恒重,称重,计算土壤含水量^[8]。(表 1)

1.3.2 菌根侵染率和生物量测定

将采回的根系剪成 0.5 ~ 1.0 cm 长的根段,采用 Phillips 和 Hayman 染色方法^[9],OLYMPUS BX51/BX52 系统显微镜观察菌根结构特征并测定菌根侵染率。采用计算样地单位面积(m²)外生菌根重量表示外生菌根生物量(g·m⁻²)^[10]。

1.3.3 细菌数量测定

采用稀释涂布平板法测定细菌数量,细菌培养基为牛肉膏-蛋白胨培养基^[11]。

1.3.4 微生物群落水平生理轮廓(CLPPs)测定

(1) 菌根根际土壤微生物悬浮液

依据根尖有菌丝包裹和根尖粗且圆的根为菌根侵染的根^[12],每个处理随即剪取 50 个新鲜菌根根尖,设 3 个重复,用无菌镊子将菌根压碎,使菌丝网破裂,放入装有 90 ml 0.85% NaCl 无菌溶液三角瓶中,摇床振荡(200 r·min⁻¹)30 min,从而得到菌根表面和内部的微生物悬浮液,采用 10 倍稀释法,用 0.85% NaCl 无菌溶液将其稀释至浓度为 10⁻³。

(2) 多底物酶联反应(ELISA)

在超净工作台上,接种微生物悬浮液于 ECO 微平板(ECO MicroPlate, 美国 Matrix Technologies Corporation 生产)中,每孔 150 μL。将接种的 ECO 板装入聚乙烯袋中置于(25 ± 1)℃下暗箱培养;连续培养 240 h,期间每隔 12 h 用 ELISA 反应微平板读数器在 590 nm 处读数 1 次。

1.4 数据处理

1.4.1 采用孔平均颜色变化率法(Average Well-Color Development, AWCD)测定土壤微生物利用单一碳源的能力。AWCD 的计算公式为:

$$AWCD = \sum (C_i - R) / 31$$

式中, C_i 为各反应孔在 590 nm 下的光密度值; R 为 ECO 板对照孔 A1 的光密度值; $C_i - R$ 小于零的孔,计算中记为零,即: $C_i - R \geq 0$ ^[4];每种碳源反应孔的平均颜色变化率 $AWCD_i = C_i - R$,代谢指纹图谱中的 $AWCD_i$ 值为 3 次重复平均值。

1.4.2 群落 Shannon 指数(H)

$$H = - \sum P_i \times \ln P_i$$

式中, $P_i = (C_i - R) / \sum (C_i - R)$,表示有碳源的孔与对照孔 A1 的光密度值之差与整板总差的比值。

1.4.3 群落丰富度指数(S)

用碳源代谢孔的数目($AWCD > 0.2$ 则代表该孔碳源被利用,该孔即为反应孔)表示群落丰富度指数^[13]。

BIOLOG 微平板反映的丰富度指数和多样性指数表明的是土壤微生物群落利用碳源类型的多与少,即功能多样性^[14]。本实验采用 BIOLOG 微平板培养 96 h 的数据,来进行微生物代谢多样性分析。数据采用 Excel (V2003)、SAS(V8.1)和 SPSS(V12.0)软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 ELISA 反应颜色变化率($AWCD$)

平均颜色变化率($AWCD$)是反映土壤微生物活性,作为微生物整体活性的一个重要指标^[15]。从图 1 可以看出,SNP 和 ASP 土壤微生物群落的 $AWCD$ 在整个培养过程中有明显差异。分析发现 $AWCD$ 在 24 h 之前很小,说明在 24 h 之内碳源基本未被利用;培养 24 h 后 $AWCD$ 出现了明显变化,反映出此后碳源被大幅度利用,其中 SNP 的 $AWCD$ 急剧升高,增长斜率最大,为 0.15,而且在整个育温过程中始终大于 ASP。ASP 则变化较缓慢,增长斜率仅为 0.08。

2.2 SNP 和 ASP 菌根根际微生物生理碳代谢指纹图谱分析

微生物对微平板上不同碳源利用能力的图被定义为 BIOLOG 代谢指纹图谱。测定培养 96 h 时 ASP 和 SNP 菌根根际微生物对 31 种单一碳源的代谢能力($AWCD_i$ 值),得到微生物群落代谢指纹图谱(图 2)。从图 2 可以看出 SNP 菌根根际微生物对 31 种碳源的利用程度远大于 ASP,表现在 SNP 代谢指纹图谱中 $AWCD_i \geq 1.0$ 的碳源有 13 种(糖类 5 种,氨基酸类 3 种,羧酸类 2 种,多聚物类 2 种,芳香化合物 1 种)占总碳源数的 42%,而 ASP 只有 3 种(氨基酸类 2 种,糖类 1 种),占总碳源数的 9.7%;代谢指纹中 $AWCD_i \geq 1.5$ 的碳源 SNP 有 7 种,ASP 只有 L-天门冬酰胺 1 种($AWCD_i$ 为 1.56),相差 7 倍;代谢指纹图谱中 $AWCD_i \geq 2.0$ 的碳源 SNP 有 3 种,分别为 N-乙酰-D 葡萄糖氨, D-纤维二糖和 L-丝氨酸,其中 N-乙酰-D 葡萄糖氨的 $AWCD_i$ 最大,为 2.39,而 ASP 为 0。SNP 和 ASP 碳源利用代谢功能差异显著的碳源为 27 种(图 2)。对同类碳源的代谢,SNP 也优于 ASP,表现在糖类代谢 SNP 和 ASP 的总 $AWCD_i$ 分别为 9.5 和 3.2,SNP 是 ASP 的 2.97 倍;氨基酸类代谢 SNP

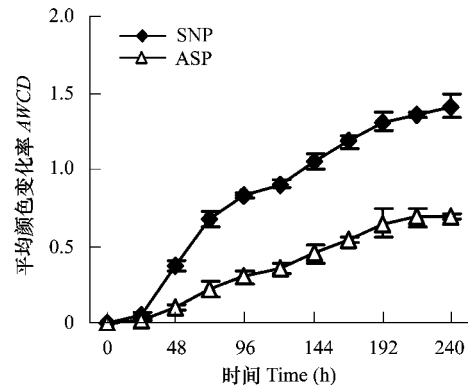


图 1 两个处理平均颜色变化率

Fig. 1 $AWCD$ of two treatments

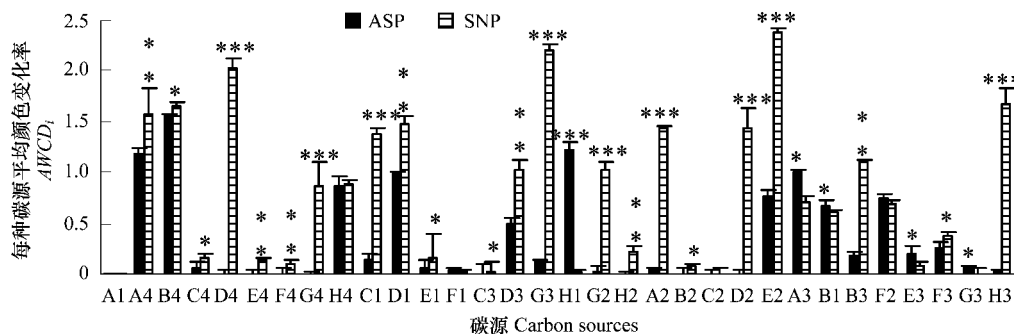


图 2 生理碳代谢指纹图谱

Fig. 2 Metabolic fingerprint of carbon level physiological profiles

A4 ~ F4: 氨基酸类 Amino acids, G4 ~ H4: 多胺类 Amines, C1 ~ F1: 多聚物类 Polymers, C3 ~ D3: 芳香化合物类 Aromatic compounds, G1 ~ A3: 糖类 Carbohydrates, B1 ~ H3: 羧酸类 Carboxylic acids; A1, A2, B1 为 BIOLOG ECO 板上碳源的序列号, $AWCD_i$ 值为 ECO 板上 3 次重复的平均值; A1, A2, B1 represented numbers about C sources in BIOLOG Eco-plates; $AWCD_i$ values shown as mean, three replicates on ECO plate; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

和 ASP 分别为 5.6 和 2.8, SNP 是 ASP 的 2 倍;羧酸类、多聚物类、多胺类和芳香化合物代谢 SNP 和 ASP 分别为 4.5 和 2.1、3.0 和 1.2、1.8 和 0.9、1.1 和 0.48。以上分析表明,ASP 和 SNP 菌根根际微生物对糖类和氨基酸类碳源较易利用,SNP 总体上代谢碳源的种类远大于 ASP,而且对同类碳源的代谢 SNP 的 *AWCD*_i 比 ASP 均高出 2 倍多。ASP 和 SNP 菌根根际微生物群落生理代谢活性,碳代谢类群有明显差异。形成了各自独特的微生物类群。ASP 菌根根际微生物以氨基酸类代谢群为优势类群,而 SNP 以糖类代谢群为优势类群。

2.3 微生物群落功能主成分分析(PCA)

对培养 96 h 的数据进行微生物群落功能主成分分析(PCA),结果表明,SNP 和 ASP 在 31 种碳源构建的主成分 3 维体系中存在明显的空间分异(图 3),31 个主成分因子中前 5 个的方差贡献率分别为 56.23%、16.36%、12.59%、9.27% 和 5.54%,累积方差贡献率达到 100%(表 2),按照统计分析的原理累积方差贡献率大于 85% 时,可以反映系统的变异,因此从中提取可以聚集单一碳源变量的数据变异(累积方差贡献率)为 85.19% 的前三个主成分 PC1、PC2 和 PC3(特征根为 17.43、5.07 和 3.91)来分析微生物群落功能多样性。由图 3 可见,两个处理在主成分坐标体系中分布差异十分明显,其中 PC1 就可以很好的区分开两个处理,ASP 投影点分布在 PC1 的负端,SNP 分布在 PC1 的正端,方差分析表明,主成分 1 的得分系数达到极显著差异($F=78.82, P<0.01$)。考察 PCA 的相关性矩阵,可知对 PC1、PC2 和 PC3 贡献的特征向量系数大于 0.50 的碳源类型(表 3),由表 3 可见,对 PC1 贡献大的碳源有 24 种,其中糖类占 33.3%,羧酸类占 20.8%,氨基酸占 16.7%,可见影响 PC1 的主要为糖类,其次是羧酸类和氨基酸类,对 PC2 和 PC3 贡献大的碳源分别为 4 种和 3 种。相关性分析表明,与 PC1 正相关程度较高的碳源有 β -甲基-D-葡萄糖苷、D-苹果酸、1-磷酸葡萄糖和 D-甘露醇,负相关的碳源有 D-半乳糖酸- γ -内酯。说明 ASP 和 SNP 菌根根际微生物在这些碳源的利用能力上有差异,也可能是代谢这些碳源的微生物群落有差异,还可能是因为该碳源是微生物生理代谢途径的重要物质,如 1-磷酸葡萄糖是好氧微生物 EMP 代谢途径的代谢枢纽物质。另外,ASP 典型变量值的变异(离散)小,在 PC2 上投影点间的平均距离为 0.92,而 SNP 典型变量值的变异较大,投影点间的平均距离为 1.68,离散较大(图 3),说明 ASP 菌根根际微生物群落结构比 SNP 相对稳定。

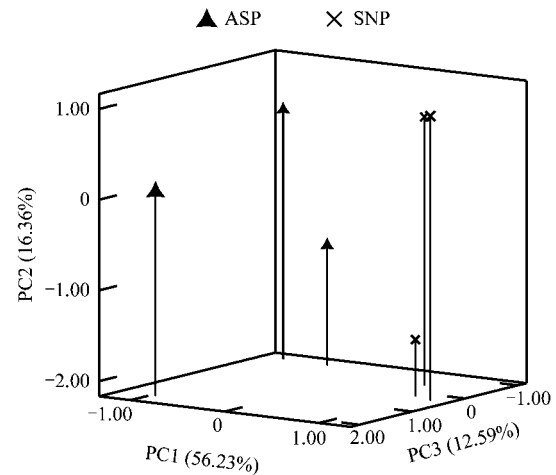


图 3 96 h 主成分分析因子载荷图

Fig. 3 Loadings of principal component analysis after 96 h culturing

表 2 主成分特征根

Table 2 Principal components characteristic vector

项目 Item	特征根 Latent root	方差贡献率 Percent of variance(%)	累积方差贡献率 Percent of total variance(%)
PC1	17.43	56.23	56.23
PC2	5.07	16.36	72.59
PC3	3.91	12.59	85.19
PC4	2.87	9.27	94.46
PC5	1.72	5.54	100.00

表 3 前 3 个主成分贡献的特征向量 ≥ 0.50 的碳源数目

Table 3 Numbers of C sources with loadings ≥ 0.50 grouped

碳源 C sources	PC1	PC2	PC3
氨基酸类 Amino acids	4	0	2
糖类 Carbohydrates	8	1	0
羧酸类 Carboxylic acids	5	2	1
多聚物类 Polymers	3	1	0
芳香类 Aromatic compounds	2	0	0
多胺类 Amines	2	0	0
合计 Total	24	4	3

2.4 菌根侵染率、外生菌根生物量、细菌数量和群落多样性指数分析

显微观察结果表明,在 ASP 和 SNP 均形成典型的外生菌根,ASP 以单轴状为主,少量为二叉状;SNP 以二

叉状为主,少量珊瑚状,并有发达的菌索,菌丝套致密且有很多外延菌丝。由表 4 可见,SNP 菌根侵染率高于 ASP,但两者差异不显著($P > 0.05$),SNP 菌根生物量为 ASP 的 2.8 倍,SNP 菌根根际细菌数量高出 ASP 11%,差异达显著水平($P < 0.05$)。SNP 的微生物群落丰富度指数(S)是 ASP 的 2.2 倍,Shannon 指数(H) SNP 高出 ASP 29.4%,统计分析显示,培养 96h 时,SNP 的 $AWCD$ 极显著高于 ASP($F = 43.20$, $P < 0.01$),ASP 和 SNP 的菌根生物量、微生物群落丰富度指数和 Shannon 指数均达极显著差异($P < 0.01$)。相关性分析表明,SNP,ASP 菌根侵染率与菌根生物量相关性不显著($P > 0.05$),菌根生物量与代谢多样性密切相关,表现为菌根生物量与细菌数量、Shannon 指数均达到显著正相关($P < 0.05$),与丰富度指数达极显著正相关($r_{\text{SNP}} = 0.912$, $P < 0.01$; $r_{\text{ASP}} = 0.893$, $P < 0.01$)。Shannon 指数受物种群落变化的影响最大,显示微生物群落功能多样性的相对多度。表明 SNP 菌根根际微生物物种丰富度及功能多样性高于 ASP。

表 4 菌根侵染率、外生菌根生物量、细菌数量和群落多样性指数分析

Table 4 The analyses of infection rate, ectomycorrhizal biomass, bacteria number and community diversity index

样地 Plots	菌根侵染率 NS Infection rate (%)	外生菌根生物量** Ectomycorrhizal biomass ($\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$)	细菌数量* Bacteria number ($10^5 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$)	平均颜色变化率** $AWCD$	Shannon 指数(H)** Shannon index	丰富度指数(S)** Richness index
SNP	91.2a	21.3a	621.6a	0.83a	1.63a	22a
ASP	89.7a	7.6b	560.3b	0.29b	1.26b	10b
平均值 Mean value	90.5	14.5	590.9	0.56	1.45	16

数值均为 3 次平均值; *, ** 分别表示同列差异达显著水平($P < 0.05$)和极显著水平($P < 0.01$), NS 代表差异不显著。Values shown as mean, $n = 3$; * and ** in each column represented statistical significant at 0.05 and 0.01 level, respectively, NS represented not significant

3 讨论

细菌数量反映的是微生物群落大小,而 $AWCD$ 和微生物群落丰富度指数、Shannon 指数反映的是微生物活性和功能多样性^[16]。本研究表明 ASP 和 SNP 菌根根际微生物代谢多样性与菌根生物量密切相关。ASP 菌根生物量远小于 SNP 菌根生物量,SNP 菌根根际细菌数量显著大于 ASP。细菌数量和微生物群落多样性指数分析,SNP 菌根根际微生物活性、丰富度和多样性指数均显著高于 ASP,和 SNP 菌根根际微生物功能多样性生理碳代谢指纹图谱有显著差异。ASP 菌根根际微生物以氨基酸类代谢群为优势类群,而 SNP 以糖类代谢群为优势类群。菌根根际微生物群落结构 ASP 相对稳定。菌根生物量与代谢多样性密切相关,表现为菌根生物量与细菌数量、Shannon 指数均达到显著正相关,与丰富度指数达极显著正相关。

本实验在采集菌根根际土壤时发现不同地域油松菌根形态结构差异很大,ASP 菌根为黑色、单轴状为主,而 SNP 则为红棕色或浅黄褐色、二叉状为主,这可能与菌根真菌种类有关。两者菌根侵染率差异不显著,原因可能是 22 年生的油松菌根侵染已经达到了平衡极限,菌根侵染率增加缓慢或不再增加^[17]。不同菌根的分泌物不同,产生不同的根际效应。这与 Heinonsalo 等^[18]的研究相同,Heinonsalo 等研究了欧洲赤松(*Pinus sylvestris*)菌根根际细菌群落的变化,运用 rDNA(ITS)-RFLP 和 BIOLOG 法检测了生长 7 个月欧洲赤松根部有粘盖牛肝菌(*Suillus bovinus*),土生空团菌(*Cenococcum geophilum*),疣革菌(*Thelephora terrestris*)等 8 种菌根真菌,并运用 BIOLOG GN 板检测不同的菌根真菌形成的菌根根际细菌群落结构发生了变化,认为在菌根根际细菌碳源的利用范围更广,而且跟土壤类型无关。Söderberg 等^[19]运用 BIOLOG 和 PLFA 法相结合研究认为菌根的形成影响了根际细菌群落多样性,对细菌数量的影响主要是植物种类的影响,同一种菌根真菌侵染不同的植物所形成的对根际细菌群落的影响程度不同。作者在实验过程中也发现接种不同的外生菌根真菌产生的根际效应——对细菌群落结构多样性的影响有差异。

菌根生物量对菌根根际微生物数量有显著影响,菌根生物量增加,菌根根际微生物群落丰富度也增加,原因可能是外生菌根形状、菌根外延菌丝长度、菌丝套质量、面积对其有影响。ASP 菌根形态以单轴状为主,为微生物生存提供的附着点少于以二叉分枝状为主的 SNP 菌根,SNP 菌根为微生物尤其是某些细菌类群,如菌根促生细菌(MHB)提供更多的生存空间,而这些 MHB 则又促进菌根的形成^[20]。ASP 菌根生物量远小于 SNP

菌根生物量,还可能与土壤酸碱度有关,安塞油松土壤为碱性土壤(pH8.01),商南油松土壤为微酸性(pH6.70)。在碱性土壤条件下,由于硝化作用而导致硝酸根离子增多,不利菌丝体生长,菌根形成也受到很大影响。还有可能是 SNP 油松根系本身及其外生菌根真菌分泌产物例如糖类、氨基酸、有机酸等物质为土壤微生物群落提供了更加丰富的碳源(另文报道),因此其土壤微生物的结构和功能多样性高于 ASP,但是 Assigbetse 等^[21]研究认为细菌群落的变化是受菌根真菌的影响而不是植物根的影响,有关机理有待进一步探讨。

References:

- [1] Garland J L. Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28(2): 213—221.
- [2] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(8): 2351—2359.
- [3] Grayston S J, Wang S, Campbell C D, *et al.* Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30(3): 369—378.
- [4] Selmants P C, Hart S C, Boyle S I, *et al.* Red alder (*Alnus rubra*) alters community-level soil microbial function in conifer forests of the Pacific Northwest, USA. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37(10): 1860—1868.
- [5] Grayston S J, Prescott C E. Microbial communities in forest floors under four tree species in coastal British Columbia. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37(6): 1157—1167.
- [6] Zheng H, Ouyang Z Y, Wang X K. Effects of forest restoration patterns on soil microbial communities. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(11): 2019—2024.
- [7] Clegg S, Gobran G R. Rhizospheric P and K in forest soil manipulated with ammonium sulfate water. *Canadian Journal of Soil Science*, 1997, 77(4): 525—533.
- [8] Lu R K. Soil analytical methods for and agricultural chemistry. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000. 147—155.
- [9] Phillips J M, Hayman D S. Improved procedures for clearing and staining parasitic and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society*, 1970, 55: 158—161.
- [10] Valdes M, Asbjornsen H, Gomez-Cardenas M, *et al.* Drought effects on fine-root and ectomycorrhizal-root biomass in managed *Pinus oaxacana* Mirov stands in Oaxaca, Mexico. *Mycorrhiza*, 2006, 16(2): 117—124.
- [11] Shen P, Fan X R, Li G W. Microbiology Experiment. Beijing: Higher Education Press, 1999. 50—51.
- [12] Sun Y, Quan X K, Jia S X, *et al.* Effects of nitrogen fertilization on ectomycorrhizal infection of first order roots and root morphology of *Larix gmelinii* plantation. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(8): 1727—1732.
- [13] Fisk M C, Ruether K F, Yavitt J B. Microbial activity and functional composition among northern peatland ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(4): 591—602.
- [14] Ma Y, Chen Z L, Zeng Z L. Effects of enrofloxacin on functional diversity of soil microbial communities. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(8): 3400—3406.
- [15] Xu H Q, Xiao R L, Zhu D S, *et al.* Effect of long term fertilization on functional diversity of soil microbial community of the tea plantation. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(8): 3355—3361.
- [16] Liu A M, Huang W Y. Microbial activities and functional diversity of community in soils polluted with copper tailing after cultivate. *Ecology and Environment*, 2005, 14(6): 876—879.
- [17] Gong M Q, Chen Y L, Zhong C L. Mycorrhizal research and application. Beijing: China Forestry Press, 1997. 8—12.
- [18] Heinonsalo J, Joergensen K S, Sen R. Microcosm-based analyses of Scots pine seedling growth, ectomycorrhizal fungal community structure and bacterial carbon utilization profiles in boreal forest humus and underlying illuvial mineral horizons. *FEMS Microbiology Ecology*, 2001, 36(1): 73—84.
- [19] Söderberg K H, Olsson P A, Bååth E. Structure and activity of the bacterial community in the rhizosphere of different plant species and the effect of arbuscular mycorrhizal colonization. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, 40(3): 223—231.

- [20] Duponnois R, Plenchatte C. A mycorrhiza helper bacterium (MHB) enhances ectomycorrhizal and endomycorrhizal symbiosis of Australian *Acacia* species. *Mycorrhiza*, 2003, 13(2): 85—91.
- [21] Assighetse K, Gueye M, Thioulouse J, *et al.* Soil bacterial diversity responses to root colonization by an ectomycorrhizal fungus are not root-growth-dependent. *Microbial Ecology*, 2005, 50(3): 350—359.

参考文献:

- [6] 郑华, 欧阳志云, 王效科. 不同森林恢复类型对土壤微生物群落的影响. *应用生态学报*, 2004, 15(11): 2019~2024.
- [8] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000. 147~155.
- [11] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验. 北京: 高等教育出版社, 1999. 50~51.
- [12] 孙玥, 全先奎, 贾淑霞, 等. 施用氮肥对落叶松人工林一级根外生菌根侵染及形态的影响. *应用生态学报*, 2007, 18(8): 1727~1732.
- [14] 马驿, 陈杖榴, 曾振灵. 恩诺沙星对土壤微生物群落功能多样性的影响. *生态学报*, 2007, 27(8): 3400~3406.
- [15] 徐华勤, 肖润林, 邹冬生, 等. 长期施肥对茶园土壤微生物群落功能多样性的影响. *生态学报*, 2007, 27(8): 3355~3361.
- [16] 刘爱民, 黄为一. 铜尾矿复垦后土壤微生物活性及其群落功能多样性研究. *生态环境*, 2005, 14(6): 876~879.
- [17] 弓明钦, 陈应龙, 仲崇禄. 菌根研究及应用. 北京: 中国林业出版社, 1997. 8~12.