

## 干热河谷不同树龄攀枝花苏铁丛枝菌根真菌多样性研究

魏玉倩<sup>1#</sup>, 陈健鑫<sup>1#</sup>, 郑艳玲<sup>2</sup>, 王芳<sup>2</sup>, 马焕成<sup>2\*</sup>, 伍建榕<sup>1\*</sup>

(1. 西南林业大学 云南省高校森林灾害预警控制重点实验室, 云南 昆明 650224;

2. 西南林业大学 国家林业和草原局西南地区生物多样性保育重点实验室, 云南 昆明 650224)

**摘要:** 攀枝花苏铁是我国特有的古老残遗树种, 为适应干热河谷气候, 攀枝花苏铁与丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)建立特殊的共生体系。选用不同树龄的攀枝花苏铁为研究对象, 采集攀枝花苏铁根系及根际土壤样品, 采用醋酸墨水染色法观察根系的 AMF 定殖情况并计算定殖率; 同时采用湿筛沉淀法对 AMF 孢子进行分离, 通过形态学特征及分子生物学鉴定相结合的方法研究攀枝花苏铁 AMF 的种类、多样性及与树龄的关系。结果表明, 14 年生、8 年生和 3 年生攀枝花苏铁根系 AMF 定殖率分别为 36.13%、28.54%、21.10%; 根际土壤 AMF 孢子密度分别为 16.02、14.13、13.3 个·g<sup>-1</sup>, 形态学鉴定到 6 属 22 种, 分别为球囊霉属(*Glomus*)、无梗囊霉属(*Acaulospora*)、近明球囊霉属(*Claroideoglomus*)、斗管囊霉属(*Funnelli forms*)、盾巨孢囊霉属(*Scutellospora*)和硬囊霉属(*Sclerocystis*), 球囊霉属和无梗囊霉属为优势属, 相对多度分别为 56.91%和 28.23%。分子生物学鉴定到 3 属 6 种, 分别为近明球囊霉(*C. claroideum*)、明球囊霉(*G. clarum*)、缩球囊霉(*G. constrictum*)、无梗囊霉属(*A. srobiculata*)、黑球囊霉(*G. melanosporum*)和地表球囊霉(*G. versiforme*)。统计分析表明, AMF 定殖率与 AMF 孢子密度之间的相关性是 0.873 9, 呈显著的正相关关系。该研究为攀枝花苏铁的保育提供了理论依据。

**关键词:** 攀枝花苏铁; 丛枝菌根真菌(AMF)多样性; 树龄; 菌根定殖率; 干热河谷

**中图分类号:** S763.15

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-7461(2022)04-0203-07

### Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in *Cycas panzhihuaensis* at Different Tree Ages in Dry Hot Valley

WEI Yu-qian<sup>1#</sup>, CHEN Jian-xin<sup>1#</sup>, ZHENG Yan-ling<sup>2</sup>, WANG Fang<sup>2</sup>, MA Huan-cheng<sup>2\*</sup>, WU Jian-rong<sup>1\*</sup>

(1. Yunnan Provincial Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control, Southwest Forestry University,

Kunming 650224, Yunnan, China; 2. Key Laboratory of Biodiversity Conservation in Southwest China,

National Forestry and Grassland Administration, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China)

**Abstract:** *Cycas panzhihuaensis*, a unique species in China, can grow the dry and hot valley climate, because it can form a symbiotic system with arbuscular mycorrhizal fungi (AMF). In this study, *C. panzhihuaensis* trees with different ages were taken as the study objects, and the root system and rhizosphere soil samples were collected to examine the AMF community composition and colonization rate by using ink-vinagar staining method. The spores of AMF were separated by wet sieve precipitation, and the relationship between AMF diversity and tree age were studied by morphological and molecular biological identification method. It was found that the colonization rates of 14-, 8-, and 3-year-old trees were 36.13%, 28.54% and 21.10% respectively, and the AMF spore densities were 16.02, 14.13, and 13.3 spores per gram of soil, respective-

收稿日期: 2021-09-04 修回日期: 2021-10-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(31860208, 31360198, 31560207); 西南林业大学木棉纤维人工林产业化培育省级创新团队项目(2018HC014)。

第一作者: 魏玉倩。研究方向: 森林保护学。E-mail: 1271309363@qq.com。# 两位作者对这项工作做出了同样的贡献。

\* 通信作者: 伍建榕, 教授。研究方向: 森林病理学及资源微生物利用。E-mail: 1176279044@qq.com

ly. Twenty two AM fungi belonging to 6 genera were morphological identified, including *Glomus*, *Acaulospora*, *Claroideoglomus*, *Funnelform*, *Scutellospora*, and *Sclerocystis*. *Glomus* and *Acaulospora* were the most dominant genera with the relative abundances of 56.91% and 28.23%, respectively. Six AM fungi belonging to 3 genera were molecular identified, including *Claroideoglomus claroideum*, *Glomus clarum*, *G. constrictum*, *Acaulospora srobiculata*, *G. melanosporum* and *G. versiforme*, respectively. The correlation coefficient between arbuscular mycorrhizal colonization rate and AMF spore density was 0.873 9, showing a significant positive correlation. The result provides a theoretical basis for the conservation of *C. panzhihuaensis*.

**Key words:** *Cycas panzhihuaensis*; arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) diversity; tree age; mycorrhizal infection rate; dry hot valley

攀枝花地区是典型的干热河谷地区,位于 26°51'32"N, 101°34'46"E, 四川省最南部,地处攀西裂谷中南段,夏季长,旱季雨季分明昼夜温差大,气候干燥,降雨量集中在雨季<sup>[1]</sup>。攀枝花苏铁国家级自然保护区位于金沙江北岸的巴关河西坡及格里坪后山,属于典型的亚热带半干旱河谷气候类型,冬季气候温和,日照充沛,热量丰富<sup>[2]</sup>。该地区地势陡峭、河谷深切、地形封闭<sup>[3]</sup>。金沙江干热河谷森林覆盖率不足 5%,生态环境恶劣,水土流失严重,植物难以在该地区建立长期稳定的种群。

攀枝花苏铁(*Cycas panzhihuaensis*)是中国特有的古老孑遗植物,与熊猫、恐龙合称为“巴蜀三宝”,生存时间长达 2 亿 a 以上<sup>[4]</sup>。攀枝花苏铁最初发现于攀枝花市附近的巴关河西坡,继而在毗邻的格里坪后山及宁南、德昌、盐源和云南华坪等县的局部地区也有发现,是苏铁属在东亚大陆分布纬度最北的种类。攀枝花苏铁能适应干旱河谷的特殊生境能在河谷岩壁的石缝中建立自己的种群<sup>[5]</sup>,为适应外界不良的环境,攀枝花苏铁与土壤微生物建立共生关系,进化出了特殊的根系,包括主根、侧根和特化的珊瑚状根。目前对苏铁特殊根系的研究主要集中在由共生蓝藻形成的珊瑚状根上,大多数研究者认为共生蓝藻通过根系的裂缝、水孔、根系顶端及根系分支处开始侵染并延伸至藻胞层定殖<sup>[6-8]</sup>。研究指出攀枝花苏铁根系内生菌有较高的多样性,Zheng Y 等<sup>[9]</sup>利用高通量技术对攀枝花苏铁不同组织和根际土壤中微生物物种多样性和群落组成进行分析表明,不同组织中的微生物群落均有高度的多样性;研究表明自然生态系统中菌根真菌影响植物种群的竞争能力,菌根真菌的多样性决定着植物的生物多样性、生态系统的变化以及植物的生产力<sup>[10]</sup>。

丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)隶属于球囊菌门(Glomeromycota)的一类专性活体营养共生菌,能与陆地生态系统约 80% 以上的高等植物形成互惠共生体,通过共生体 AMF 能

促进植物对 N、P、K 等矿物质元素及微量元素的吸收和利用,增强植物的抗旱、抗寒和盐胁迫等的抗逆性,促进植物生长、加快幼苗成活、促进农林业发展,对生物多样性的维持和生态系统稳定具有重要的作用<sup>[11-12]</sup>。AMF 主要以菌丝网和孢子的形式定殖于植物根际土壤中,同时以丛枝和泡囊的结构共生于植物根系中<sup>[13]</sup>,有文献报道,苏铁与 AMF 也存在共生关系,B. Jack 和 P. Andrew<sup>[14]</sup>在南美苏铁(*Zamia pumila*)和双子铁(*Dioon edule*)中描述了存在于根系皮层薄壁细胞的 AMF,并提出了当土壤 P 元素含量受限时,苏铁需要 AMF 才能成功地固 N,但攀枝花苏铁中是否有 AMF 定殖还未见报道。

本课题组前期研究发现,生长于干旱贫瘠土壤的攀枝花苏铁根系土壤有大量的 AMF 孢子,然而对不同树龄的 AMF 定殖情况及群落组成鲜见报道。本研究以不同树龄的攀枝花苏铁根系及根际土壤为研究对象,从攀枝花苏铁根际土壤中分离 AMF 孢子,通过形态学特征和分子生物学方法进行种类鉴定,并通过醋酸墨水染色法观察 AMF 的定殖情况及计算定殖率,统计分析不同树龄的攀枝花苏铁根内及根际土壤中 AMF 种类及多样性的变化趋势,旨在为攀枝花苏铁菌根化育苗栽培及保育提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

于 2018 年 7 月在四川省攀枝花市攀枝花苏铁国家级自然保护区内,采用五点取样法<sup>[15]</sup>,在每点分别采取 8 株 14 a、8 a 和 3 a 树龄的攀枝花苏铁植株,每个植株在东、西、南、北 4 个方位采集苏铁根系及土样。取根样时,先用 75% 乙醇擦拭枝剪,快速剪取须根后保存于 FAA 固定液中,同时挖取苏铁根际土壤,采集距地表 5~20 cm 的根际土壤 1 000 g,装入无菌塑料袋,带回实验室进行后续试验。

### 1.2 根系 AMF 定殖率的测定

采用醋酸墨水染色方法观察攀枝花根系菌根真

菌定殖状况。将根样从 FAA 固定液中取出,流水缓慢冲洗 2~3 次后将根系剪成 1 cm 长的根段,然后将根样置于 20% KOH 中透明,置于 5% 醋酸中酸化,用 5% 醋酸墨水染色液染色,最后用清水浸泡脱色后即可镜检<sup>[16]</sup>。每个样品采集 50 个根段,计算根段定殖率。

根段定殖率参照唐燕等<sup>[17]</sup>的方法,将 AMF 定殖强度划分为强、中、弱 3 级,强定殖率为 76%~100%,中定殖率为 25%~75%,弱定殖率为 0~24%。根段侵染率的计算公式如下:

根段定殖率(%) =  $\frac{\sum(0 \times \text{根段数} + 10\% \times \text{根段数} + \dots + 100\% \times \text{根段数})}{\text{总根段数}}$  (1)

1.3 AMF 孢子的分离与密度统计

采用湿筛沉淀法<sup>[18]</sup>分离土壤中 AMF 孢子。称取风干土样 20 g 置于 250 mL 广口瓶中,将水加至 200 mL,用玻璃棒将其充分搅拌均匀,静置过夜,制备成土壤悬浮液。将悬浮液分别过 20、100、140、200、300 目的土壤筛,用自来水反复轻柔清洗,直至筛底流出的水澄清为止,将筛面筛出的物质全部转移至烧杯中,加水至 200 mL,静置 20 min 后转入梨形分液漏斗进行沉降除沙,分液漏斗中静置 20 min 后,打开活塞,待分液漏斗中所剩溶液为 100 mL 时,关闭活塞,所得的孢子悬浮液用布氏漏斗进行过滤,经真空抽气泵抽气于直径为 9 cm 的垫有滤纸的培养皿上,20 目的不过滤。并在体式显微镜下分别计数各筛面的孢子数目,统计每克土样中含有的 AMF 孢子的数量计为 AMF 孢子密度<sup>[19]</sup>。

1.4 AMF 孢子的鉴定

形态学鉴定方法:挑取单个 AMF 孢子置于载玻片上,通过光学显微镜观察并拍照记录,重点观察孢子大小、形状、颜色、连孢菌丝、孢子壁及发芽壁的层数和厚度、孢子压破后的内含物等特征。根据 SCHENCK 和 PEREZ 的《VA 菌根真菌鉴定手册》和 INVAM(<http://invam.caf.wvu.edu>)提供的种的描述的图片进行种属的检索和鉴定,并将数量及相对多度较高的种计为优势种属。

分子生物学鉴定方法:采用 OMEGA 公司 MicroElute Genomic DNA Kit 试剂盒提取单孢子总 DNA,参照李小林等<sup>[20]</sup>的方法,通过巢式 PCR 扩增 AMF 18S rDNA 片段。通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增结果,正确的扩增产物送昆明擎科生物有限公司进行测序。双向测通的序列通过 DNAMAN 进行拼接并去除两端低质量序列,通过 MEGA 6.0 中的邻接法构建系统发育树,依此确定菌株的分类地位。

1.5 攀枝花苏铁 AMF 多样性及不同树龄间的差异分析

参照包玉英等<sup>[21]</sup>的方法,采用孢子密度、物种丰富度、优势度、Shannon-Wiener 多样性指数和 Simpson 生态优势度来描述攀枝花苏铁 AMF 多样性,同时分析 14 年生、8 年生和 3 年生攀枝花苏铁 AMF 的差异性。采用 Excel 统计试验数据,并使用 SPSS22.0 软件分析不同树龄之间的显著性差异。

2 结果与分析

2.1 攀枝花苏铁根系 AMF 定殖情况

攀枝花苏铁根系染色后的样本在光学显微镜下可见 AMF 侵染与定殖情况(图 1),其中菌丝、泡囊是根系内 AMF 的主要结构。

通过表 1 数据统计分析,结果表明,不同树龄攀枝花苏铁的根系 AMF 定殖情况存在一定差异,14 年生攀枝花苏铁根系的 AMF 定殖率最高,达到高定殖强度,定殖结构以泡囊为主(图 1a、图 1b);8 年生根系 AMF 定殖率中等,为中定殖强度,定殖结构以泡囊和菌丝为主(图 1c、图 1d);3 年生的 AMF 定殖率较低,为弱定殖强度,定殖结构以菌丝为主,泡囊结构较少(图 1e、图 1f)。

表 1 不同树龄的攀枝花苏铁 AMF 的定殖情况

Table 1 The colonization of AMF in <i>Cycas panzhihuaensis</i> trees with different ages %			
处理	泡囊	菌丝	菌根真菌定殖率
3 年生	25.68±0.18 a	9.11±0.20 c	21.10±0.25 a
8 年生	29.16±0.21 b	25.18±0.22 a	28.54±0.27 b
14 年生	38.44±0.23 c	15.18±0.20 b	36.13±0.25 c

注:数据为平均值±标准误,表中每一列数据后不同小写字母表示该平均值的多重比较在 0.05 水平上有显著性差异。下同。

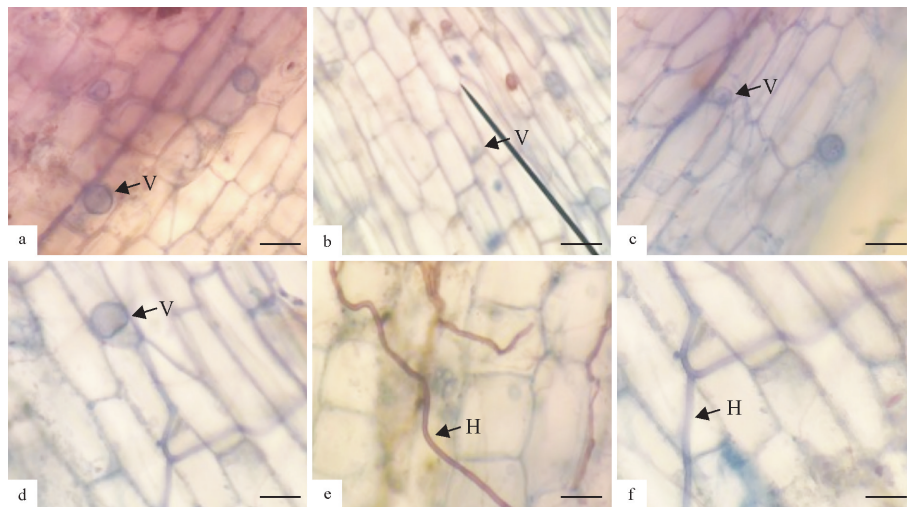
2.2 不同树龄阶段的攀枝花苏铁 AM 真菌的鉴定

基于形态学特征鉴定,攀枝花苏铁根际土壤中共分离、鉴定得到 6 属 22 种的 AMF 孢子(图 2),包括球囊霉属(*Glomus*)、无梗囊霉属(*Acaulospora*)、近明球囊霉属(*Claroideoglomus*)、斗管囊霉属(*Funneliiformis*)、盾巨孢囊霉属(*Scutellospora*)、硬囊霉属(*Sclerocystis*)。球囊霉属和无梗囊霉属为攀枝花苏铁根际 AMF 的优势属,相对多度分别为 56.91%和 28.23%。

由表 2 可见,3 年生攀枝花苏铁根系中共鉴定出 AMF 3 属,包括球囊霉属、无梗囊霉属和盾巨孢囊霉属。特有菌种为澳大利亚球囊霉(*G. australe*)、蜜色无梗囊霉(*A. mellea*)、黑色盾巨孢囊霉(*S. nigra*);8 年生苏铁根系中共鉴定出 AMF 4 属,包括球囊霉属、无梗囊霉属、近明球囊霉属和硬囊霉属。特有菌种为皱壁无梗囊霉(*A. rugosa*);14 年生苏铁

根系中共鉴定出 AMF 5 属,包括球囊霉属、无梗囊霉属、近明球囊霉属、硬囊霉属和斗管囊霉属,特有菌种

为细凹无梗囊霉(*A. scrobiculata*)、幼套近明球囊霉(*C. ctunicatum*)、摩西斗管囊霉(*F. mosseae*)。



注:a,b 为 14 年生攀枝花苏铁;c,d 为 8 年生攀枝花苏铁;e,f 为 3 年生攀枝花苏铁;V 为泡囊;H 为菌丝;标尺=20  $\mu\text{m}$ 。

图 1 攀枝花苏铁根系 AMF 形态

Fig. 1 Morphology of AMF in roots of *Cycas panzhihuaensis*

表 2 不同树龄的攀枝花苏铁根际土壤中 AMF 孢子种类组成

Table 2 The community of AMF in rhizosphere soil of *Cycas panzhihuaensis* with different ages

AMF 种类	3 年 /个	8 年 /个	14 年 /个	相对多度 (%)
(1)球囊霉属 <i>Glomus</i>	150	163	181	56.91
澳大利亚球囊霉 <i>G. austral</i>	41	2	1	5.07
黑球囊霉 <i>G. melanosporum</i>	39	3	2	5.07
明球囊霉 <i>G. clarum</i>	32	2	1	4.03
团集球囊霉 <i>G. glomerulatum</i>	4	12	21	4.26
网状球囊霉 <i>G. reticulatum</i>	7	13	20	4.61
斑点球囊霉 <i>G. maculosum</i>	3	16	16	4.03
多梗球囊霉 <i>G. multicaule</i>	2	19	22	4.95
膨果球囊霉 <i>G. pansihalos</i>	1	17	17	4.03
地表球囊霉 <i>G. versiforme</i>	3	12	17	3.69
缩球囊霉 <i>G. constrictum</i>	2	15	19	4.15
地球囊霉 <i>G. geosporum</i>	5	17	21	4.95
卷曲球囊霉 <i>G. convolutum</i>	9	21	10	4.61
小果球囊霉 <i>G. microcarpum</i>	2	14	14	3.46
(2)无梗囊霉属 <i>Acaulospora</i>	107	61	77	28.23
蜜色无梗囊霉 <i>A. mellea</i>	50	13	7	8.06
双网无梗囊霉 <i>A. bireticulata</i>	32	21	30	9.56
皱襞无梗囊霉 <i>A. rugosa</i>	12	19	24	6.34
细凹无梗囊霉 <i>A. scrobiculata</i>	13	8	16	4.26
(3)近明球囊属 <i>Claroideoglomus</i>	0	26	21	5.41
近明球囊霉 <i>C. claroideum</i>	0	26	17	4.95
幼套近明球囊霉 <i>C. ctunicatum</i>	0	0	4	0.46
(4)硬囊霉属 <i>Sclerocystis</i>	0	32	28	6.91
台湾硬囊霉 <i>S. taiwanensis</i>	0	32	28	6.91
(5)盾巨孢囊霉属 <i>Scutellospora</i>	9	0	0	1.04
黑色盾巨孢囊霉 <i>Scutellospora nigra</i>	9	0	0	1.04
(6)斗管囊霉属 <i>Funneliformis</i>	0	0	13	1.50
摩西斗管囊霉 <i>F. mosseae</i>	0	0	13	1.50

基于分子生物学方法,扩增了 AMF 单孢子 18S<sub>r</sub> RNA 片段,通过邻接法构建了系统发育树(图 3),共鉴定了 9 种 AMF 孢子,包括 3 年攀枝花苏铁 AMF 孢子 2 种,8 年生攀枝花苏铁 AMF 孢子 2 种及 14 年生攀枝花苏铁 AMF 孢子 5 种。

### 2.3 不同树龄的攀枝花苏铁 AMF 多样性及相关性分析

由表 3 可知,攀枝花苏铁 AMF 侵染率随年龄增长呈现增加的趋势,14 年生攀枝花苏铁根际土壤 AMF 孢子密度为 16.02 个/g,8 年生攀枝花苏铁根际土壤孢子密度为 14.13 个/g,3 年生攀枝花苏铁根际土壤孢子密度为 13.3 个/g,结果表明 AMF 孢子密度也随树龄的增加呈现递增的趋势。

通过菌根定殖率与孢子密度的相关性分析,得到二者之间的相关性是 0.873 9,呈显著的正相关关系。由此得出,随着树龄增加,菌根真菌定殖率、孢子密度、丰富度和多样性指数均能够增加。

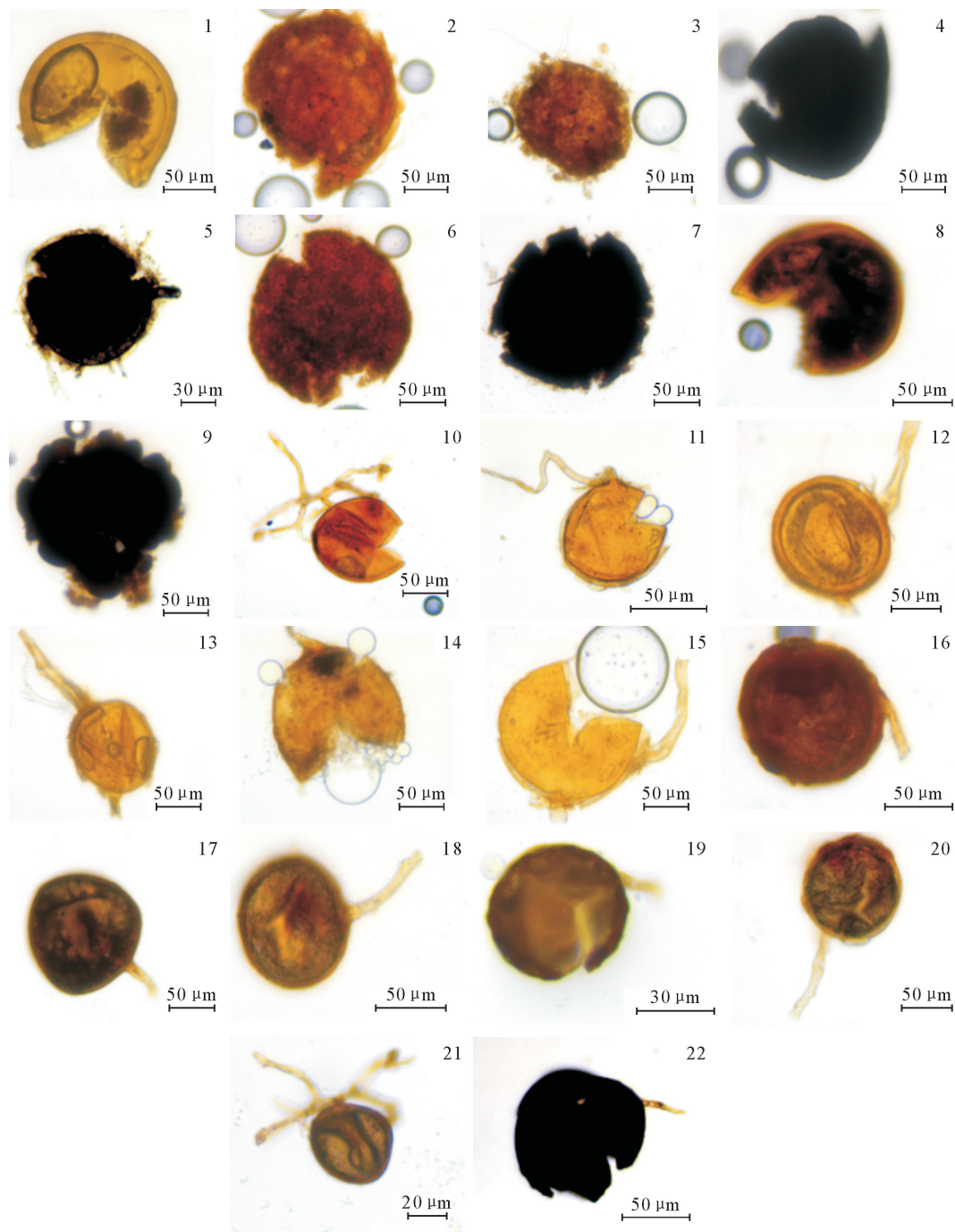
## 3 结论与讨论

在陆地生态系统中,土壤微生物能够影响植物生长、群落组成和种类多样性,同时陆地植物也会影响土壤微生物生态系统,两者形成动态相互作用的关系<sup>[22]</sup>。当宿主植物发生改变时,土壤中的 AM 真菌种类和数量也会发生改变。本研究对干热河谷攀枝花苏铁自然保护区的不同树龄的攀枝花苏铁根际土壤 AM 真菌进行分离、物种鉴定以及菌根定殖进行分析后发现,土壤 AMF 定殖率、孢子密度、多样性指数与树龄密切相关,首次报道了 AMF 在宿主

苏铁中的定殖率和多样性,填补了空白。

本研究中,3年生、8年生和14年生的攀枝花苏铁 AMF 定殖率分别为 21.10%、28.54% 和 36.13%,孢子密度分别为 13.3、14.13 个/g 和 16.02 个/g,说明苏铁种植 8 a 就达到了较稳定的菌根真菌定殖率,这与树龄越大,抗逆性越强是一致的。大量研究结果表明,AMF 定殖率及群落组成受到生态环境中的气候和土壤条件影响很大<sup>[23]</sup>,同

时也受到植株年龄的影响<sup>[24]</sup>。研究发现,不同生长年龄的攀枝花苏根际土壤中 AMF 种类存在差异,14年生攀枝花苏铁孢子密度最高,且分离出的 AMF 种类也最多,鉴定出 16 个种的 AMF;8年生的次之,共鉴定出 14 个种的 AMF;而3年生攀枝花苏铁只有 6 个种的 AMF。究其原因,一方面可能是因为 AMF 能够促进宿主植物对土壤养分等的吸收,促进植物生长;另一方面宿主植物能够为 AMF



注:1. 黑球囊霉;2. 澳大利亚球囊霉;3. 蜜色无梗囊霉;4. 双网无梗囊霉;5. 黑色盾巨孢囊霉;6. 团集球囊霉;7. 网状球囊霉;8. 近明球囊霉;9. 斑点球囊霉;10. 多梗球囊霉;11. 膨果球囊霉;12. 地表球囊霉;13. 地球囊霉;14. 缩球囊霉;15. 卷曲球囊霉;16. 小果球囊霉;17. 黑球囊霉;18. 明球囊霉;19. 双网无梗囊霉;20. 细凹无梗囊霉;21. 幼套近明球囊霉;22. 台湾硬囊霉。

图2 攀枝花苏铁根际土壤丛枝菌根真菌孢子形态

Fig. 2 The morphology of AMF spores in rhizospheric soils of *Cycas panzhihuaensis*

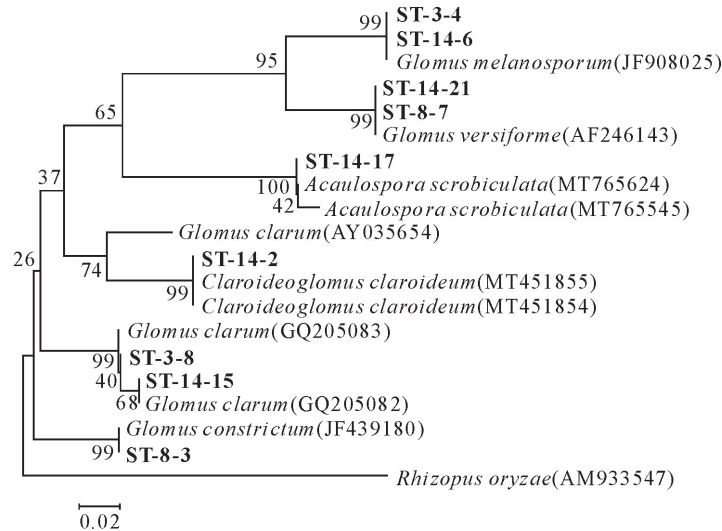


图3 基于18S rRNA构建的系统发育树

Fig. 3 A phylogenetic tree developed by 18sr RNA gene

表3 不同树龄攀枝花苏铁 AMF 定殖率与 AMF 孢子密度的相关性

Table 3 The correlation between the colonization rate and spore density of AMF in *Cycas panzhihuaensis* trees with different ages

处理	AMF 定殖率(%)	孢子密度/(个·g <sup>-1</sup> )	多样性指数	辛普森指数	相关性系数
3 a	21.10±0.25 a	13.30±0.26 a	1.004 2	0.387 7	0.664 7
8 a	28.54±0.27 b	14.13±0.15 b	1.024 8	0.411 2	0.972 7
14 a	36.13±0.25 c	16.02±0.11 c	1.079 7	0.475 3	0.984 2

提供碳水化合物,与之互惠共生的 AMF 属的数目也相对增加<sup>[25]</sup>。这在一定程度上表明树龄越长,越能够为 AMF 提供更适宜的生存和繁殖条件,不同的树龄,随生物量增加,AMF 多样性丰富,定殖率增高,抵抗不良环境,改善环境条件,土壤 AMF 多样性增加,增加 P 的吸收,增加固 N 作用,生物量增加。同时 AMF 对提高苗木和植物的总生物量、总根长、根表面积、根投影面积和根体积具有积极作用。树木能长出更多的根,通过根直径的函数改变根系增殖,以增加植物营养中选择性觅食的能力<sup>[26]</sup>。通过与植物形成共生体,AMF 可以改变植物根系形态,主要增加根系生物量,从而提高根系觅食和吸收养分的能力,进而改变植物的整体生长潜力。不同树龄的攀枝花苏铁土壤中,球囊霉属的 AMF 相对丰度较高,这可能是因为球囊霉属具有较强的环境适应能力和独特的繁殖特性<sup>[27]</sup>,较高的产孢率能够使其在不同环境中定殖,因此分布广泛。而 3 年生攀枝花苏铁中无梗囊霉属相对丰度高于 14 年生攀枝花苏铁,无梗囊霉属的 AMF 往往在酸性环境条件下的土壤中具有较高的产孢率<sup>[28]</sup>。

AM 真菌的分离鉴定是保护以及利用微生物资源最基本也是最重要的工作。AM 真菌几乎可以存在于土壤中任何地方,且有丰富的物种多样性。近年来,有关 AM 真菌物种多样性研究越来越多,下一步试验中希望通过探究土壤理化性质,从而了解

土壤与 AMF 之间的相关性。通过完善植物 AM 真菌的种质资源调查,对筛选高效菌种以及农林业菌根真菌资源的开发和应用具有重要的意义。

#### 参考文献:

- [1] 郝云庆,莫旭,余志祥,等.攀枝花苏铁类群的种子植物区系地理研究[J].四川林业科技,2011,32(6):28-33.  
HAO Y Q, MO X, YU Z X, et al. Florogeographical analysis of spermatophytes in *Cycas panzhihuaensis* assemblage[J]. Journal of Sichuan Forestry Science and Technology, 2011, 32(6): 28-33. (in Chinese)
- [2] 孙阁.“巴蜀之宝”攀枝花苏铁[J].广西林业,2017(8):46-48.
- [3] 何永华,李朝奎.攀枝花苏铁种群生态地理分布、分布格局及采挖历史的研究[J].植物生态学报,1999,23(1):24-31.  
HE Y H, LI C L. The ecological geographic distribution, spatial pattern and collecting history of *Cycas panzhihuaensis* populations[J]. Acta Phytocologica Sinica, 1999, 23(1): 24-31. (in Chinese)
- [4] 唐炎林,苏智先.珍稀濒危植物攀枝花苏铁的研究现状与展望[J].山西师范大学学报:自然科学版,2004,18(2):87-92.  
TANG Y L, SU Z X. The research actuality and prospect of a rare and endangered plant named *Cycas panzhihuaensis*[J]. Journal of Shanxi Teacher's University: Natural Science Edition, 2004, 18(2): 87-92. (in Chinese)
- [5] 黄素华,楚永兴,王跃华,等.云南苏铁属植物的种类及分布[J].云南大学学报:自然科学版,1998(Supp. 4):531-534,539.  
HUANG S H, CHU Y X, WANG Y H, et al. Species and distribution of *Cycas* in Yunnan[J]. Journal of Yunnan University: Natural Science Edition, 1998(Supp. 4): 531-534, 539. (in Chinese)

- [6] NOORUDDIN T, GANGATHARAN M, MARIAPPAN S, *et al.* Morphological and genetic diversity of symbiotic cyanobacteria from cycads[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2010, 50(3):254-265.
- [7] 陈彬, 宋铁英, 郑伟文. 苏铁珊瑚状根及根周围土壤中蓝细菌的PCR指纹图谱[J]. *福建农业学报*, 2004, 19(1):58-61.  
CHEN B, SONG T Y, ZHENG W W. PCR fingerprints of cyanobacteria isolated from coralloid roots of Cycads (*Cycas revoluta*) and their surrounding soil[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2004, 19(1):58-61. (in Chinese)
- [8] 朱激. 苏铁(*Cycas revoluta* Thunb.)珊瑚状根内的蓝藻和内生腔附近细胞的超微结构[J]. *植物学报*, 1982(2):109-114, 201-203.  
ZHU C. Fine structure of blue-green algae and the cells lined along the endophyte cavity in the coralloid root of *Cycas* [J]. *Acta Botanica Sinica*, 1982(2):109-114, 201-203. (in Chinese)
- [9] ZHENG Y, GONG X. Niche differentiation rather than biogeography shapes the diversity and composition of microbiome of *Cycas panzhihuaensis* [J]. *Microbiome*, 2019, 7(1).
- [10] VAN DER HEIJDEN M G A, KLIRONOMOS J N, URSIC M, *et al.* Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity [J]. *Nature*, 1998, 396(6706):69-72.
- [11] 庄倩, 赵晓娟, 宋福强. 紫穗槐丛枝菌根(AM)根系分泌物诱导根瘤菌结瘤因子及作用研究[J]. *西北林学院学报*, 2018, 33(3):164-168.  
ZHUANG Q, ZHAO X J, SONG F Q. *Amorpha fruticosa* arbuscular mycorrhizal (AM) root exudates induced nodulation factors of rhizobia and their interactions [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2018, 33(3):164-168. (in Chinese)
- [12] 赖文珍, 王思佳, 胡文涛, 等. 华南主要树木丛枝菌根真菌物种多样性调查研究[J]. *西北林学院学报*, 2018, 33(6):171-179.  
LAI W Z, WANG S J, HU W T, *et al.* Investigation on species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi occurring in the main tree species in Southern China [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2018, 33(6):171-179. (in Chinese)
- [13] 刘润进, 陈应龙. 菌根学[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [14] JACK B, ANDREW P. Mycorrhizae are present in cycad roots [J]. *The Botanical Review*, 2004, 70(1):
- [15] 孟繁荣. 林木菌根学[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 1996:137-150.
- [16] 盛萍萍, 刘润进, 李敏. 丛枝菌根观察与感染率测定方法的比较[J]. *菌物学报*, 2011, 30(4):519-525.  
SHENG P P, LIU R J, LI M. Methodological comparison of observation and colonization measurement of arbuscular mycorrhizal fungi [J]. *Mycosystema*, 2011, 30(4):519-525. (in Chinese)
- [17] 唐燕, 李敏, 马焕成, 等. 云南轿子山腋花杜鹃菌根多样性研究[J]. *云南大学学报: 自然科学版*, 2019, 41(5):1062-1072.  
TANG Y, LI M, MA H C, *et al.* Mycorrhizal diversity of *Rhododendron racemosum* Franch. in Yunnan Jiaozi Mountain [J]. *Journal of Yunnan University: Natural Science Edition*, 2019, 41(5):1062-1072. (in Chinese)
- [18] MARSHALL B, KOSKE R E. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi from sand dunes of cape cod, Massachusetts [J]. *Transactions of the British Mycological Society*, 1984, 83(1):
- [19] 唐明. 菌根真菌提高植物耐盐性[M]. 北京: 科学出版社, 2010:66-68.
- [20] 李小林, 李昕竺, 袁红梅, 等. 烟草土壤真菌群落结构和多样性及环境因子对其影响[J]. *四川师范大学学报: 自然科学版*, 2015, 38(1):134-141.  
LI X L, LI X Z, YUAN H M, *et al.* The fungal diversity and community structure of tobacco soil with environmental variables influences [J]. *Journal of Sichuan Normal University: Nature Science Edition*, 2015, 38(1):134-141. (in Chinese)
- [21] 包玉英, 莫莉, 陈金, 等. 北电胜利煤矿排土场土壤 AM 真菌与土壤理化性状相关性研究[J]. *煤炭学报*, 2019, 44(12):3670-3675.  
BAO Y Y, MO L, CHEN J, *et al.* Correlation between soil AM fungi and physical and chemical properties in the dumping site of Beidian-Shengli coal mine [J]. *Journal of China Coal Society*, 2019, 44(12):3670-3675. (in Chinese)
- [22] 赵忠, 王真辉. 菌根真菌与根际微生物间的关系及其对宿主植物的影响[J]. *西北林学院学报*, 2001, 16(4):70-75.  
ZHAO Z, WANG Z H. The relationships between mycorrhizal fungi and microbe of rhizosphere and their influences on host plant [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2001, 16(4):70-75. (in Chinese)
- [23] XIANG D, VERESOGLOU S D, RILLIG M C, *et al.* Relative importance of individual climatic drivers Shaping arbuscular mycorrhizal fungal communities [J]. *Microbial Ecology*, 2016, 72(2):418-427.
- [24] LU N, XU X, WANG P, *et al.* Succession in arbuscular mycorrhizal fungi can be attributed to a chronosequence of *Cunninghamia lanceolata* [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1).
- [25] 李雪静, 徐天乐, 陈保冬, 等. 荒漠和草原生态系统丛枝菌根真菌多样性和群落结构[J]. *生态学杂志*, 2017, 36(10):2734-2743.  
LI X J, XU T L, CHEN B D, *et al.* Diversity and community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in desert and steppe ecosystems [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2017, 36(10):2734-2743. (in Chinese)
- [26] GUTJAHN C, PARNISKE M. Cell and developmental biology of arbuscular mycorrhiza symbiosis [J]. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 2013, 29.
- [27] 汪志琴, 马琨, 王小玲, 等. 冬麦免耕覆盖栽培对土壤丛枝菌根真菌多样性的影响[J]. *核农学报*, 2019, 33(5):135-143.  
WANG Z Q, MA K, WANG X L, *et al.* Effect of no-tillage and mulching management on soil arbuscular mycorrhizal fungal diversity [J]. *Journal of Nuclear Agriculture Sciences*, 2019, 33(5):135-143. (in Chinese)
- [28] 彭岳林, 杨敏娜, 蔡晓布. 西藏高原针茅草地土壤因子对丛枝菌根真菌物种多样性的影响[J]. *应用生态学报*, 2010, 21(5):182-187.  
PENG Y L, YANG M N, CAI X B. Influence of soil factors on species diversity of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi in stioasteppe of Tibet Plateau [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(5):182-187. (in Chinese)