



研究报告

内蒙古中部地区马铃薯根际和根系丛枝菌根真菌类群的多样性

张之为 田永伟 杨剑峰 王超 张键 赵君 王东 郑红丽*

内蒙古农业大学园艺与植物保护学院 内蒙古 呼和浩特 010018

摘要:【背景】丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungus, AMF)是菌根真菌中分布最广泛的一类真菌,能够与90%以上的植物形成菌根共生体,并通过调节宿主体内的代谢活动增强植物的抗逆性。【目的】揭示内蒙古马铃薯主产区土壤中AMF的结构与组成,解析马铃薯不同发育阶段以及连作对AMF类群的影响。【方法】以内蒙古中部地区大井村、徐麻天村和红格尔图村采集的马铃薯根系及根际土为材料,通过PCR扩增建立18S rRNA基因文库,研究不同地点、不同马铃薯生育阶段以及连作对马铃薯根系内和根际土中的AMF类群组成和多样性的影响。【结果】大井村和红格尔图村马铃薯根际土中的AMF的类群多样性优于徐麻天村,其中*Glomus*为大井村和红格尔图村马铃薯根际土样本中AMF的优势菌群,而徐麻天村样本根际土中的优势类群为*Diversispora*。马铃薯根系中的AMF多样性的研究结果表明,3个供试地点根系内AMF类群的类型没有显著差异,但是AMF类群的比例却不同。大井村根系样本中AMF的优势菌为*Diversispora*,而*Rhizophagus*是红格尔图村和徐麻天村根系样本中的优势AMF类群。同一供试地点马铃薯苗期和块茎膨大期根际土中的AMF类群的类型多于块茎形成期,其中*Glomus*是马铃薯不同发育阶段根际土中的优势类群;而*Rhizophagus*是3个不同发育阶段根系内的优势类群。2015和2016年马铃薯连作地块中根际土和根系内AMF类群的类型完全相同,但是不同的AMF类群的相对丰度随着马铃薯的连作呈现出显著的变化。其中,根际土样本中*Glomus*和*Archaeospora*类群的相对丰度随着连作有所上升,相应的*Entrophospora*和*Diversispora*相对丰度有所下降;根系样本中AMF的优势类群随着连作从*Glomus*转变为*Rhizophagus*。AMF多样性测定结果表明,连作对马铃薯根际土中AMF多样性的影响显著高于对根系内类群的影响。【结论】AMF类群的多样性会因土壤组成成分、马铃薯生育期和连作效应而呈现不同变化。

关键词: 马铃薯, 丛枝菌根真菌, 群体多样性

Foundation items: National Key Research and Development Program (2018YFD020080102); Construction Project of Academician Workstation for Soil Borne Disease Microecological Control of Inner Mongolia Agricultural University (201803048); Special Research Project for Public Welfare Industry (Agriculture) (201503109)

*Corresponding author: E-mail: zhlfcy66@126.com

Received: 09-07-2019; Accepted: 04-11-2019; Published online: 07-12-2019

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD020080102); 内蒙古农业大学土传病害微生态调控院士工作站建设项目(201803048); 公益性行业(农业)科研专项(201503109)

*通信作者: E-mail: zhlfcy66@126.com

收稿日期: 2019-07-09; 接受日期: 2019-11-04; 网络首发日期: 2019-12-07

Arbuscular mycorrhizal fungi population diversity of rhizosphere soil and root system in potato field in central Inner Mongolia

ZHANG Zhi-Wei TIAN Yong-Wei YANG Jian-Feng WANG Chao ZHANG Jian
ZHAO Jun WANG Dong ZHENG Hong-Li

College of Horticulture and Plant Protection, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot,
Inner Mongolia 010018, China

Abstract: [Background] Arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) is the most widely distributed fungi in mycorrhizal fungi. They can form mycorrhizal symbiosis with more than 90% of the plants, and enhance the resistance of plants by regulating metabolic activities in the host. [Objective] To reveal the structure and composition of AMF in soil of main potato producing areas in Inner Mongolia, and analyze the effects of different development stages of potato and continuous cropping on AMF groups. [Methods] Using root and rhizosphere soils of potato collected from Dajing, Xumayao and Honggeertu villages in central of Inner Mongolia as material, though PCR amplification and establishing 18S rRNA gene library, try to study the effect on AMF composition and diversity in potato rhizosphere soils and root at different locations, different growth stage and continuous cropping plot. [Results] AMF diversity of rhizosphere soil in Dajing village and Honggeertu village was more than that in Xumayao village, the dominant strain was *Glomus* in both Dajing village and Honggeertu village, while *Diversispora* was the dominant strain in Xumakuo village. In roots, the results of AMF diversity showed that there was no significant difference among three areas, but the proportion of AMF population was different. *Diversispora* was the dominant strain in Dajing village, *Rhizophagus* was the dominant strain in Honggeertu village and Xumayao village. The AMF diversity of potato rhizosphere soil in seedling stage and tuber swelling stage were more than that in tuber formation stage at the same area, *Glomus* was the dominant strain in the three stages, while in root the *Rhizophagus* was the dominant strain in the three stages. After 2015 and 2016 continuous cropping potato in Dajing village, the types of AMF populations in rhizosphere soil and root were identical, but the relative abundance of different AMF populations changed significantly. Among the rhizosphere soil samples, the relative abundance of *Glomus* and *Archaeospora* population increased with continuous cropping, and the relative abundance of *Entrophospora* and *Diversispora* decreased. But the dominant population of AMF in root samples changed from *Glomus* to *Rhizophagus* with continuous cropping. This result indicated that the effect of continuous cropping on AMF diversity in rhizosphere soil was significantly higher than that in root. [Conclusion] The diversity of AMF population varies with soil composition, potato growth period and cropping effect.

Keywords: *Solanum tuberosum* L., Arbuscular mycorrhizal fungus, Community diversity

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)属于茄科茄属双子叶植物,起源于南美洲的秘鲁和玻利维亚的安第斯山区,因其耐寒、耐旱、耐贫瘠和适应性广的特点,在世界范围被广泛种植,是重要的粮食、饲料、蔬菜兼用作物。我国是世界马铃薯生产大国,其种植面积和总产量位居世界首位。2015年,我国农业部正式发布《关于推进马铃薯产业开发的指导意见》,将马铃薯作为主粮产品进行产业化开发。内蒙古由于其高海拔和夏季凉爽的

气候条件成为我国最大的马铃薯种薯、商品薯和加工专用薯的生产基地^[1-2]。然而,由于生产中过度地追求马铃薯的产量,导致化学肥料施用过度,从而造成了土壤养分不能被作物有效地吸收利用,氮、磷、钾等营养元素易被土壤固结,由此形成的各种化学盐分在土壤中大量的积累,造成了土壤养分结构的失调,土壤物理性状的恶化。同时,轮作倒茬的困难也使得马铃薯土传病害的发生日益加重,农药的大量施用又造成了土

壤的严重污染,从而严重危害马铃薯的产量和品质。因此,提高马铃薯对肥料的利用效率以及利用复合微生物群体控制土传病害的发生,改善土壤结构对于保障马铃薯产业的发展至关重要。

菌根真菌(mycorrhizal fungus)是一类能够侵染植物并与植物形成共生关系的一类真菌^[3],通过其发达的根外菌丝提高宿主植物获得土壤水分、矿质营养元素的能力^[4]。丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungus, AMF)是菌根真菌中分布最广泛的一类真菌,能够与世界 90%以上的植物形成菌根共生体,并通过调节宿主体内的代谢活动增强植物的抗逆性^[5-8]。研究发现,经过 AMF 处理后,植株对于干旱和盐胁迫的抵抗能力显著增加^[9-12]。同时 AMF 侵染后还能够诱导植物建立局部或者系统抗性,从而提高植物的抗病性^[13]。除了在植物抵抗生物或非生物的胁迫具有重要作用,AMF 还具有调节植物对于营养元素的吸收能力,经过 AMF 侵染后,植物对于矿质元素的吸收能力显著提高^[14-15]。近些年研究者已经对马铃薯根际和根系内 AMF 群体多样性方面展开了相应的研究,也取得了一定的进展,如秦越等已经证明了马铃薯土壤中 AMF 的结构与类群的多样性会受土壤 pH、全磷含量及碳水化合物、多聚化合物和胺类化合物的影响,尤其是土壤中速效磷的含量过高会抑制 AMF 的生长和发育^[16]。研究还发现当马铃薯和 AMF 共生后,促进了马铃薯根系对土壤中磷的吸收和利用,提高了马铃薯的产量和品质^[17-18]。彭有才等的研究结果表明,连作会导致土壤中细菌和真菌比例发生变化,进而影响 AMF 的组成^[19]。马玲在马铃薯连作地块研究结果也表明了 AMF 类群数量会随着连作时间增加而降低^[20]。

为了揭示内蒙古马铃薯主产区土壤中 AMF 的结构与组成,解析马铃薯不同发育阶段以及连作对 AMF 类群的影响,以内蒙古中部不同地区马铃薯地块中采集的马铃薯的根系及根际土为材料,采用巢式 PCR (nested-PCR)技术构建马铃薯

根际土壤和根系内 AMF 的基因文库,研究内蒙古中部地区不同的马铃薯地块、不同马铃薯生育期以及连作对马铃薯根际和根系内 AMF 类群多样性的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

Peasy-Blunt Simple Cloning Kit, 北京全式金生物技术有限公司; Power Soil DNA Isolation Kit, MOBIO 公司。NanoDrop 2000, Thermo 公司; 显微镜 Olympus CX23, Olympus 公司。

1.2 样品采集及处理

马铃薯根系及根际土样本于 2015 年在内蒙古中部不同地区马铃薯地块中进行采集。3 个样本采集地点为包头市达茂旗大井村(N41°51'40", E111°08'10")、乌兰察布市凉城县徐麻夭村(N40°48'61", E113°34'50")和察哈尔右翼后旗红格尔图村(N41°64'20", E113°13'01"), 3 个不同地点土壤样本的基本信息见表 1。其中徐麻夭村马铃薯土壤中磷、有效磷、有机质、速效氮、速效钾含量显著高于大井村和红格尔图村的土壤样本,但

表 1 不同采样地点土壤理化特性

Table 1 Physical and chemical characteristics of soil at different sites

地点 Location	大井村 Dajing village	徐麻夭村 Xumayao village	红格尔图村 Honggeertu village
土壤类型 Soil type	砂土 Sand	砂土 Sand	砂土 Sand
磷 Phosphorus (mg/100g)	50.72	59.56	48.79
有效磷 Effective phosphorus (mg/100g)	34.06	48.55	23.78
有机质 Organic matter (%)	2.73	3.20	2.81
酸碱 pH	8.13	8.05	8.47
氮 Nitrogen (mg/100g)	138.69	85.33	173.53
速效氮 Available nitrogen (mg/kg)	110.19	131.35	134.28
水溶性盐总量 Water-soluble salt (g/kg)	0.72	0.66	0.79
速效钾 Available potassium (mg/kg)	119.6	165.4	121.6

其氮含量显著低于大井村和红格尔图村, 水溶性盐总量和酸碱性与大井村和红格尔图村没有显著性差异。

马铃薯不同生育期根系及根际土样本采自包头市达茂旗大井村, 分别为苗期(出苗至顶端出现花蕾)、块茎形成期(现蕾至开始开花)、块茎膨大期(从始花至盛花末期) 3 个时期。连作地块马铃薯根系及根际土样本于 2015 和 2016 年在察哈尔右翼后旗红格尔图村马铃薯地块中采集。

样本采集时选择马铃薯植株附近根系周围地表 5 cm 以下的土壤作为根际土样本, 而根系样本采自马铃薯植株的侧根。每个地块采用五点法进行取样, 每个取样点设置 3 次重复。

将所采集的马铃薯根际土晾干后, 称取 0.5–1.0 g 根际土装入 50 mL 离心管中, 然后加入 0.1 mol/L (pH 7.0)磷酸缓冲溶液 25 mL, 旋涡 10–30 s。用孔径为 100 μ m 的滤网过滤, 12 000 r/min 离心 2 min 后弃上清, 加入 700 μ L 磷酸缓冲溶液, 混匀后转入 2 mL 离心管中, -80°C 保存备用。

将马铃薯根系转入 50 mL 离心管中, 用 25 mL 磷酸缓冲溶液(pH 7.0)旋涡清洗 2 次后, 转入 15 mL 离心管, 50 Hz 超声波 30 s 间隔清洗 10 min。将根系晾干后, 挑拣出根中夹杂的杂质后放入 2 mL 离心管, -80°C 保存备用。

1.3 染色观察马铃薯根系中定殖的 AMF

将采自包头市达茂旗大井村、乌兰察布市凉城县徐麻夭村和察哈尔右翼后旗红格尔图村的马铃薯土样, 与灭菌的基质以 1:2 混合, 装入花盆, 将经过表面消毒的马铃薯种植到花盆中, 置于光照培养箱培养 3 个月, 培养条件为温度 25°C , 光周期为 16 h 光照, 8 h 黑暗。每个地点设置 3 个重复。

取培养 3 个月后的马铃薯须根, 置于 50%乙醇中保存。染色时将保存的马铃薯须根用自来水清洗干净, 剪成 1 cm 小段, 每个地区马铃薯根系样

本剪取 50 个。先置于 50 mL 10%的 KOH 溶液中, 90°C 水浴 30 min; 然后蒸馏水冲洗 3 次, 滤纸吸干水分, 用 50 mL 碱性 H_2O_2 90°C 脱色 60 min; 置于 50 mL 5%乙酸中, 室温酸化 5 min; 置于 50 mL 5%苔盼兰溶液, 90°C 染色 5 min; 蒸馏水冲洗后, 置于体积比为乳酸:甘油:水=1:1:1 的溶液中, 用摇床 40 r/min 脱色 10 min, 蒸馏水冲洗后置于显微镜下观察并照相。

1.4 土样中微生物 DNA 的提取与 Nested-PCR

采用 CTAB 法提取马铃薯根系中的微生物的总 DNA; 根际土中微生物 DNA 的提取采用试剂盒 Power Soil DNA Isolation Kit。提取 DNA 在 1.0%琼脂糖凝胶中通过电泳检测其质量, 同时利用 NanoDrop 2000 测定其浓度。

Nested-PCR 反应程序: 第一次 PCR 反应条件: 98°C 5 min; 98°C 10 s, 60°C 15 s, 72°C 2 min, 40 个循环; 72°C 10 min, 扩增片段 1.8 kb (SSUmAf-LSUmAr); 第二次 PCR 反应条件: 98°C 5 min; 98°C 10 s, 63°C 15 s, 72°C 2 min, 30 个循环; 72°C 10 min, 扩增片段 1.5 kb (SSUmCf-LSUmBr), 引物信息^[21]见表 2。

表 2 Nested-PCR 引物序列^[21]

Table 2 Primer sequence for nested-PCR^[21]

引物 Primers	序列 Sequences (5'→3')
SSUmAf1	TGGGTAATCTTTTGAAACTTYA
SSUmAf2	TGGGTAATCTTTRTGAAACTTCA
SSUmCf1	TCGCTCTTCAACGAGGAATC
SSUmCf2	TATTGTTCTTCAACGAGGAATC
SSUmCf3	TATTGCTCTTNAACGAGGAATC
LSUmAr1	GCTCACACTCAAATCTATCAAA
LSUmAr2	GCTCTAACTCAATTCTATCGAT
LSUmAr3	TGCTCTTACTCAAATCTATCAAA
LSUmAr4	GCTCTTACTCAAACCTATCGA
LSUmBr1	DAACACTCGCATATATGTTAGA
LSUmBr2	AACACTCGCACACATGTTAGA
LSUmBr3	AACACTCGCATACATGTTAGA
LSUmBr4	AAACACTCGCACATATGTTAGA
LSUmBr5	AACACTCGCATATATGCTAGA

1.5 AMF 基因文库的构建及序列分析

经过第一次 PCR 反应, 利用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 将片段大小为 1.8 kb 的 PCR 产物稀释 50 倍后, 取 2 μ L 用于第二次 PCR 反应的模板。利用 1% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测, 将片段大小为 1.5 kb 的 PCR 产物与平末端载体连接(Peasy-Blunt Simple Cloning Kit), 构建 AMF 基因文库。经过蓝白斑筛选后, 利用 M13F/R 引物进行 PCR 鉴定, 然后随机挑取 25 个克隆进行测序。测序所得序列在 NCBI 数据库的 BLAST 程序中进行相似性比对, 将与已知 AMF 类群 *Glomus* (HQ857094, JF439126.1, JF439127.1, JF439125, JF439145, JF439144, AM713411, AM713414)、*Entrophospora* (FR865447, FR865446.1)、*Archaeospora* (KC515520.1, KF206453)、*Diversispora* (KJ850190, KT444714, KT444708, KT444709, KT444710)、*Rhizophagus* (FR750091, FR750088, HF968989, HF968987, HF968987, JN417514, JN417515, JN417516, JN417518, HE817882, HE817819, HE817822, HE817829, HE817898, HE817986) 序列相似度达到 97% 以上的归为一类, 然后统计该类群的 AMF 个数。

1.6 数据处理

Shannon-Wiener 指数 $H' = -\sum P_i \ln P_i$, Simpson 指数 $D = 1 / \sum P_i^2$; Pielou (si) 均匀度指数 $E = H' / H_{\max}$, 式中 $P_i = n_i / N$, P_i 为种的个体数占群落中总个体数的比例, n_i 为种 i 的个体数, N 为所在群落的所有物种的个体数之和; H_{\max} 为最大的物种多样性指数, $H_{\max} = \ln S$, S 为群落中的总物种数^[22]。采用 SAS 9.0 进行显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同地点土壤中 AMF 菌群在马铃薯根系中定殖

为了明确 3 个供试地点采集的土壤样本中是否存在 AMF 菌群, 在温室条件下利用盆栽试验对生长在上述土样中的马铃薯根系进行了染色观察,

结果表明在 3 个不同地点土样中种植的马铃薯根系里均观察到了 AMF 丛枝状菌丝以及囊泡的存在(图 1), 说明这 3 个地点土壤样本中存在 AMF 菌群。

2.2 不同地点马铃薯根际土及根系中 AMF 群体多样性

经过测序分析, 3 个地区根际土中获得 53 个有效序列, 其中大井村 17 个(*Glomus* 7 个、*Entrophospora* 5 个、*Archaeospora* 1 个、*Diversispora* 4 个), 红格尔图村 23 个(*Glomus* 5 个、*Entrophospora* 5 个、*Archaeospora* 3 个、*Diversispora* 10 个), 徐麻夭村 13 个(*Glomus* 4 个、*Entrophospora* 4 个、*Diversispora* 5 个)。大井村和红格尔图村采集的马铃薯根际土中 AMF 类群的种类多于徐麻夭村的样本, *Glomus*、*Entrophospora*、*Archaeospora* 和 *Diversispora* 是大井村和红格尔图村根际土中 AMF 的主要组成类型, 但是在上述两个不同地点的样本中 AMF 类群的相对丰度却不同, 其中 *Glomus* 在大井村和红格尔图村的相对丰度分别为 41% 和 22%, *Entrophospora* 分别为 29%

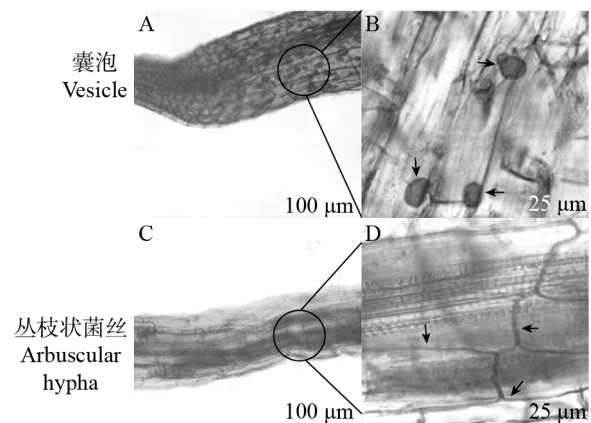


图 1 利用根系染色检测供试地点土壤样本中存在 AMF 菌群

Figure 1 Detection of AMF in soil samples from test sites via root dyeing

注: A、B: AMF 在根尖内泡囊及其放大结构; C、D: AMF 在根尖内丛枝状菌丝及其放大结构。

Note: A, B: The vesicles and enlarged structures of AMF in root tip; C, D: The arbuscular hyphae and enlarged structures of AMF in root tip.

和 22%, *Archaeospora* 分别为 6% 和 13%, *Diversispora* 分别为 24% 和 43%; 徐麻夭村根际土样本中 AMF 只包括 *Glomus*、*Entrophospora* 和 *Diversispora* 3 种类型, 相对丰度分别为 31%、31% 和 38% (图 2)。从上述结果来看, *Glomus* 是大井村和红格尔图村根际土样中 AMF 的优势菌群, 而徐麻夭村根际土样中的 3 种不同的 AMF 类群的分布频率基本相近。

根系中获得 56 个有效序列, 其中大井村 18 个 (*Diversispora* 12 个、*Rhizophagus* 6 个), 红格尔图村 20 个 (*Glomus* 2 个、*Rhizophagus* 18 个), 徐麻夭村 18 个 (*Glomus* 3 个、*Rhizophagus* 15 个)。3 个不同地区马铃薯根系样本中的 AMF 类群的组成在数量上没有差异, 大井村根系样本中的 AMF 群体主要为 *Diversispora* 和 *Rhizophagus*, 相对丰度分别为 67% 和 33%; 红格尔图村和徐麻夭村根系样本中的 AMF 类群主要为 *Glomus* 和 *Rhizophagus*, 两个不同地点根系样本中 AMF 主要类群的相对丰度分别为 10% 和 17% 以及 90% 和 83% (图 3)。

3 个不同的采样地点马铃薯根际土和根系中 AMF 类群的 Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数和 Pielou 均匀度指数测定的结果表明, 大井村、红格尔图村和徐麻夭村的根际土中 AMF 的 Simpson 指数和 Pielou 均匀度指数没有显著差异, 而红格尔图村样本的 Shannon-Wiener 指数却显著高于大井村和徐麻夭村样本 (图 4)。根系样本测定的结果

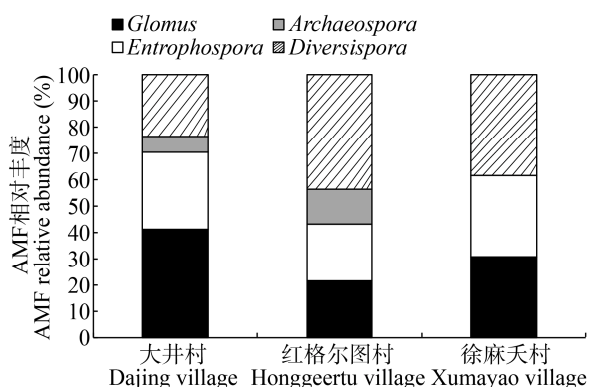


图 2 不同采样地点马铃薯根际土中 AMF 类群的组成
Figure 2 The composition of AMF in potato rhizosphere soil at different sites

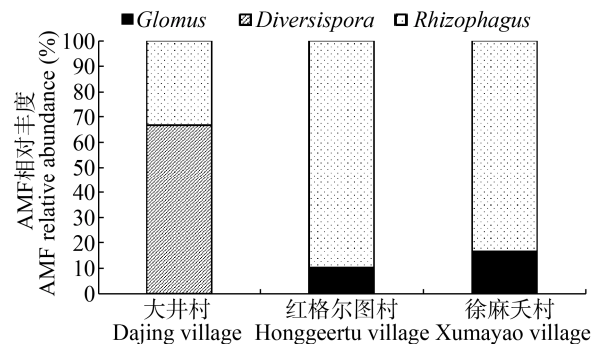


图 3 不同采样地点马铃薯根系中 AMF 类群的组成
Figure 3 The composition of AMF in potato root at different sites

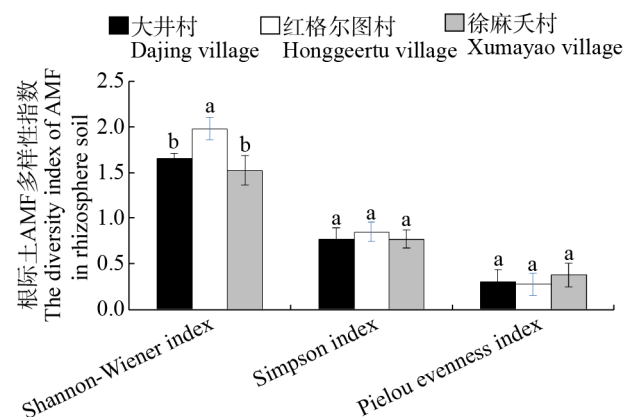


图 4 不同地点马铃薯根际土中 AMF 多样性指数比较
Figure 4 The diversity index of AMF in potato rhizosphere soil at different place

注: 不同字母代表差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

Note: Different letters represent significant differences ($P < 0.05$), the same below.

表明, 大井村的 AMF 类群的 Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数和 Pielou 均匀度指数分别为 1.10, 0.67 和 0.41, 显著高于红格尔图村 (0.40, 0.19, 0.17) 和徐麻夭村 (0.56, 0.29, 0.26) 样本测定的结果, 而红格尔图村和徐麻夭村供试样本 AMF 测定的 Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数和 Pielou 均匀度指数之间没有显著差异 (图 5)。

2.3 马铃薯不同生育期对根际土及根系中 AMF 类群多样性的影响

3 个时期马铃薯根际土中获得有效序列 60 个, 其中苗期 18 个 (*Glomus* 12 个、*Entrophospora* 1 个、*Archaeospora* 1 个、*Diversispora* 4 个), 块

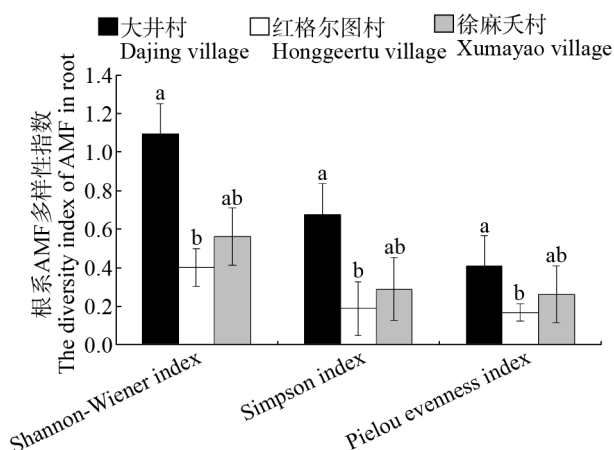


图5 不同地点马铃薯根系中AMF多样性指数比较
Figure 5 The diversity index of AMF in potato root at different place

茎形成期 22 个(*Glomus* 13 个、*Archaeospora* 2 个、*Diversispora* 7 个), 块茎膨大期 20 个(*Glomus* 13 个、*Entrophospora* 1 个、*Archaeospora* 2 个、*Diversispora* 4 个)。马铃薯苗期和块茎膨大期根际土样本中的 AMF 种类多于块茎形成期的样本, 其中苗期和块茎膨大期的 AMF 类群主要包括 *Glomus*、*Entrophospora*、*Archaeospora* 和 *Diversispora* 4 种类型; 其中苗期和块茎膨大期样本中 *Glomus* 相对丰度分别为 69% 和 64%, *Entrophospora* 为 3% 和 4%, *Archaeospora* 为 6% 和 12%, 而 *Diversispora* 为 22% 和 20%。块茎形成期根际土样本中 AMF 类群只包括 *Glomus*、*Archaeospora* 和 *Diversispora* 三种类型, 其相对丰度分别为 59%、8% 和 33%。其中, *Glomus* 是马铃薯苗期、块茎形成期和块茎膨大期根际土中 AMF 的优势菌群(图 6)。

3 个时期马铃薯根系中获得有效序列 57 个, 其中苗期 18 个(*Glomus* 8 个、*Rhizophagus* 10 个), 块茎形成期 18 个(*Glomus* 6 个、*Rhizophagus* 12 个), 块茎膨大期 21 个(*Glomus* 6 个、*Rhizophagus* 15 个)。马铃薯不同生育期根系中 AMF 的种类没有显著的差异, 均由 *Glomus* 和 *Rhizophagus* 组成; 苗期样本中的 AMF 类群的相对丰度分别为 44% 和 56%; 块茎形成期的上述 AMF 类群的相对丰度分别为

33% 和 67%; 块茎膨大期的相对丰度分别为 29% 和 71%。*Rhizophagus* 是 3 个马铃薯不同发育阶段根系中的优势 AMF 菌群, 但是随着马铃薯的生长发育, *Rhizophagus* 类群的相对丰度从苗期的 56% 增加到块茎膨大期的 71%, 相应的 *Glomus* 类群的相对丰度从苗期的 44% 下降到块茎膨大期的 29% (图 7)。

大井村马铃薯不同发育阶段 AMF 多样性指数的测定结果表明, 苗期根际土样本中 AMF 的 Shannon-Wiener 指数显著高于块茎形成期和块茎膨大期; 而 Simpson 指数和 Pielou 均匀度指数在马铃薯的 3 个不同的发育阶段没有显著差异(图 8)。3 个不同发育阶段根系样本中 AMF 的 Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数和 Pielou 均匀度指数间均没有显著性差异(图 9)。

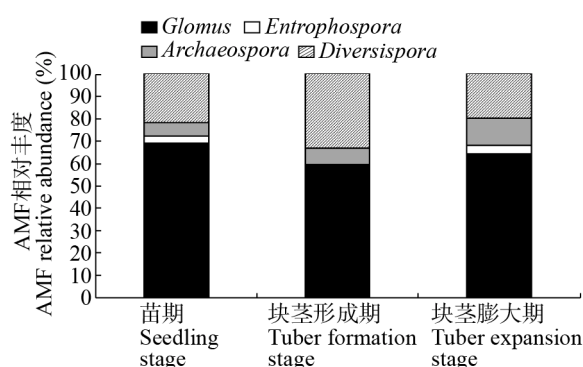


图6 马铃薯不同发育阶段根际土中AMF组成的变化
Figure 6 The composition of AMF in potato rhizosphere soil at different development stage

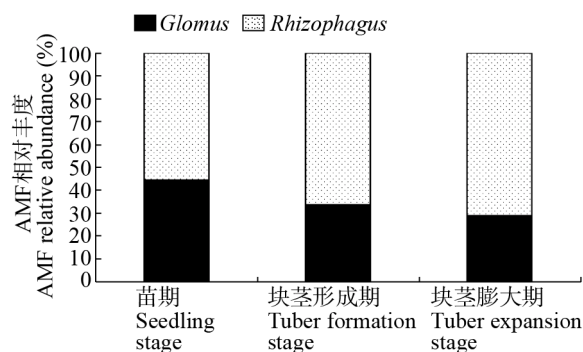


图7 马铃薯不同发育阶段根系中AMF组成的变化
Figure 7 The composition of AMF in potato root at different development stage

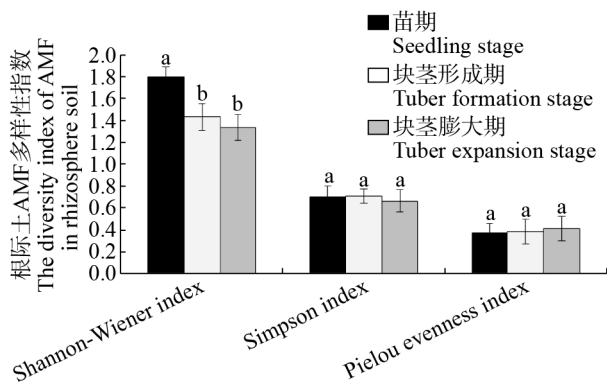


图8 马铃薯不同发育阶段根际土中 AMF 多样性指数
Figure 8 The diversity index of AMF in potato rhizosphere soil at different development stage

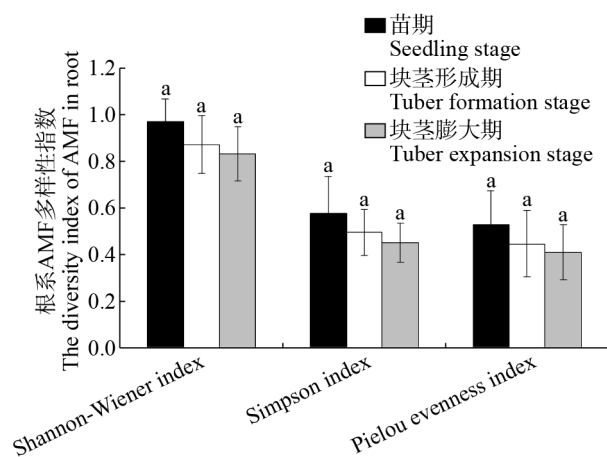


图9 马铃薯不同发育阶段根系中 AMF 多样性指数
Figure 9 The diversity index of AMF in potato root at different development stage

2.4 连作对马铃薯根际土及根系内 AMF 类群多样性的影响

为了研究连作对马铃薯根际以及根系内 AMF 类群的影响, 于2015和2016连续两年在大井村进行取样, 并对所取样本的根际土和根系内的 AMF 组成进行研究, 测序结果获得有效序列 40 个, 其中 2015 年 17 个(*Glomus* 7 个、*Entrophospora* 5 个、*Archaeospora* 1 个、*Diversisporae* 4 个), 2016 年 24 个(*Glomus* 15 个、*Entrophospora* 1 个、*Archaeospora* 3 个、*Diversisporae* 5 个)。2015 和 2016 年采集的马铃薯根际土中的 AMF 类群的组成均包括 *Glomus*、*Entrophospora*、*Archaeospora* 和 *Diversisporae* 个类群。2015 年根际土中上述 4 种不

同的 AMF 类群的组成比例分别为 41%、29%、6% 和 24%; 2016 年的 AMF 的比例分别为 64%、4%、12% 和 20%。*Glomus* 和 *Archaeospora* 类群的比例随着连作分别增加了 17% 和 6%; *Entrophospora* 和 *Diversisporae* 相对丰度随着连作相应的分别下降了 25% 和 4% (图 10)。

根系内获得有效序列 39 个, 其中 2015 年 21 个 (*Glomus* 14 个、*Rhizophagus* 7 个), 2016 年 18 个 (*Glomus* 5 个、*Rhizophagus* 13 个)。连作条件下马铃薯根系内 AMF 类群只有 2 种类型, 即 *Glomus* 和 *Rhizophagus*, 两种 AMF 类群在 2015 和 2016 年样本中的相对丰度分别为 67% 和 29% 以及 33% 和 71%。随着马铃薯的连作, 马铃薯根系中 AMF 的优势类群从 *Glomus* 转变为 *Rhizophagus* (图 11)。由此可见, 连作能够显著地影响马铃薯根际土和根系中的 AMF 类群的变化。

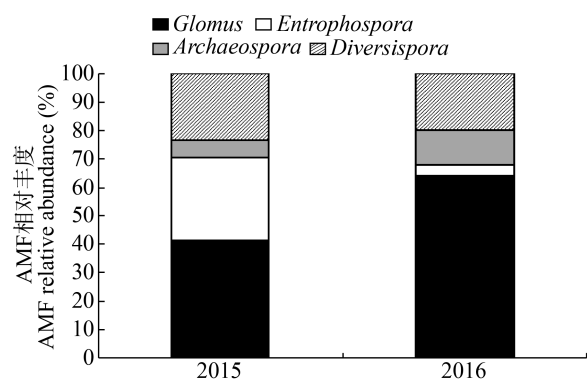


图10 连作后马铃薯根际土中 AMF 组成的变化
Figure 10 The composition of AMF in potato rhizosphere soil after continuous cropping

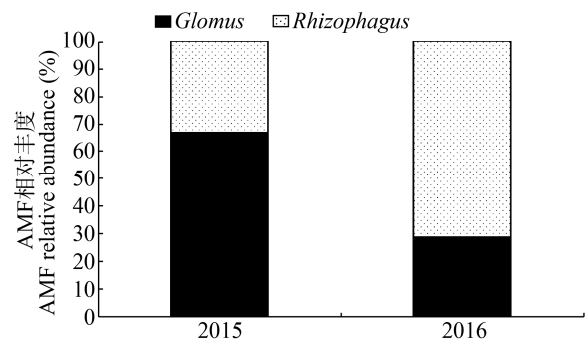


图11 连作后马铃薯根系中 AMF 组成
Figure 11 The composition of AMF in potato root after continuous cropping

2015 和 2016 连续两年的连作对马铃薯根际土和根系中 AMF 的多样性指数测定结果表明, 2015 年马铃薯根际土中 AMF 的 Shannon-Wiener 指数显著高于 2016 年根际土样本, 而 Simpson 指数和 Pielou 均匀度指数在 2015 和 2016 年之间没有显著差异(图 12)。根系样本中 2015 和 2016 两年 AMF 的 Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数和 Pielou 均匀度指数间均没有显著差异(图 13)。说明马铃薯连作后能够显著地影响根际土中 AMF 类群的多样性, 对根系中 AMF 的多样性影响较小。

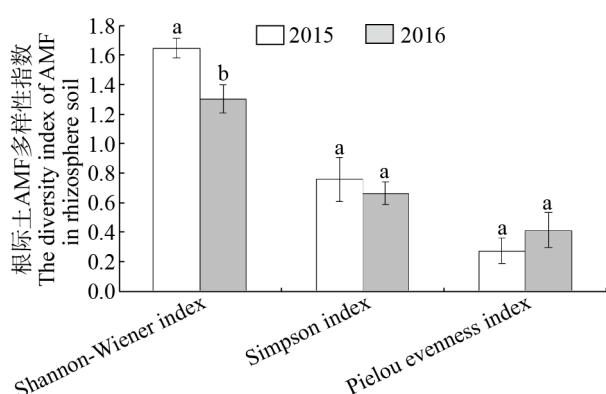


图 12 连作对马铃薯根际土中 AMF 群体多样性指数的影响

Figure 12 The diversity index of AMF in potato rhizosphere soil after continuous cropping

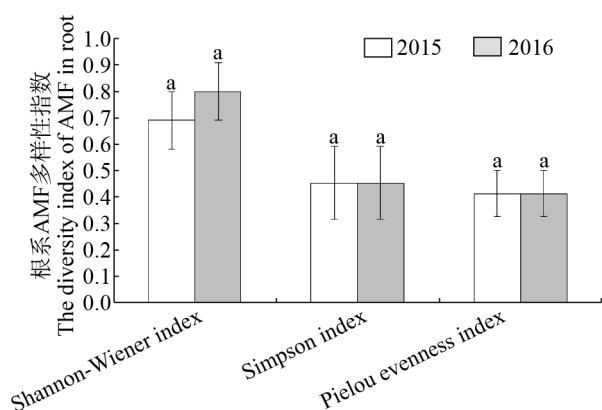


图 13 连作对马铃薯根系内 AMF 多样性指数

Figure 13 The diversity index of AMF in potato root after continuous cropping

3 讨论与结论

研究表明, 土壤中营养成分的组成对土壤微生物的种类和群落影响很大^[23]。目前已经证明了土壤中的有机质、氮肥、磷肥和钾肥的组成和含量不同, 能够导致土壤中微生物类群的结构和功能发生改变^[24-26]。AMF 作为土壤中主要的微生物群体, 其组成和丰度也会受到土壤中有机质、N、P 和 K 含量的影响。已有的研究发现土壤中 N 和 P 的增加会降低大麦和小麦土壤中 AMF 的丰度^[27-28]; 相反, 有机质含量的增加会增加 AMF 的丰度^[29]。本研究的结果表明, 内蒙古中部地区的 3 个不同供试地点马铃薯根际土中 AMF 的多样性存在一定的差异, 其中大井村和红格尔图村根际土中的 AMF 类群的丰富度要高于徐麻夭村采集的样本(图 2)。3 个供试地点土样营养成分测定的结果表明, 大井村和红格尔图村马铃薯根际土中的 P 和 K 元素的含量高于徐麻夭村, 相应的 N 和有机质含量低于徐麻夭村的样本(表 1), 说明根际土中 AMF 多样性与土壤中 P 和 K 元素以及有机质的含量具有一定的相关性, 其中 P 元素含量的增加会降低 AMF 丰度的报道^[27]和本研究得到的结果相一致, 即本研究中徐麻夭村样本中的 AMF 类群数量的减少可能和徐麻夭村马铃薯地块土壤样本中 P 含量较高有关。本研究得到的不同地点马铃薯根系中 AMF 群体多样性没有显著差异的研究结果(图 3), 说明土壤中营养元素含量的高低对定殖于马铃薯根系中 AMF 的多样性没有显著的影响。

在马铃薯的不同发育阶段, 其所需营养物质的种类和数量也不同。马铃薯整个生育期内对 N 的吸收呈现出递减的趋势, 对 P 的吸收高峰出现在出苗后 95 d 内, K 的吸收在块茎膨大初期达到最大值^[30]。本研究的结果发现大井村马铃薯苗期和块茎膨大期根际土中 AMF 类群的类型多于块茎形成期的样本(图 6), 可能是由于马铃薯苗期对土壤中的 P 的吸收利用率较大, 从而导致土壤中 P 含量的大量减少, 导致土壤中的 AMF 类群的丰富度增加; 块茎膨大期马铃薯对 K 的吸收量增加, 降低

了土壤中 K 的含量, 所以促使 AMF 类群呈现上升的趋势。通过对比苗期、块茎形成期和块茎膨大期根际土样本中的 AMF 种类, 发现在块茎形成期缺少了 *Entrophospora* 类群, 而这个时期马铃薯对于 P 和 K 的吸收能力都大大降低, 导致土壤中积累了更多的 P 和 K, 说明 *Entrophospora* 类群对于 P 和 K 积累的量更为敏感。而苗期、块茎形成期和块茎膨大期根系内 AMF 的多样性没有显著区别的结果表明(图 7), 马铃薯的不同生育期内对土壤中营养元素的吸收能力对定殖在根系内的 AMF 类群没有显著影响。

马铃薯连作是目前内蒙古马铃薯种植区普遍存在的问题。连作不仅导致马铃薯土传病害发病程度的增加, 还会影响土壤中 AMF 类群的数量和多样性, 使得不同的 AMF 类群所占的比例呈现出明显的变化^[19]。本研究结果显示, 经过 2015 和 2016 连续两年马铃薯连作后, 根际土中 *Glomus* 和 *Archaeospora* 类群的比例随着连作有所增加, 而 *Entrophospora* 和 *Diversispora* 类群的相对丰度相应的有所降低(图 10), *Glomus* 类群在根际土中仍然是优势菌种, 这与马玲的研究结果一致^[20]。由于连作会导致土壤的 pH 值改变, 相比 *Entrophospora* 和 *Diversispora* 类群, *Glomus* 类群更能够适应这种土壤酸碱度的变化。但是, 在马铃薯根系中连作使得根系中 *Glomus* 类群比例下降, 同时促使 *Rhizophagus* 类群比例增加(图 11)。由于连作后马铃薯根系的分泌物发生变化, 使根系中的碳水化合物和氨基酸含量降低^[20], 相比 *Rhizophagus* 类群, *Glomus* 类群中微生物更加依赖碳水化合物和氨基酸, 因此影响了 *Glomus* 类群中微生物在马铃薯根系的定殖。总之, 马铃薯连作会导致其根际土和根系中的 AMF 类群的数量和多样性均会发生相应的改变, 从而影响马铃薯生长和发育, 最终影响马铃薯的品质和产量。

REFERENCES

- [1] Zhao H, Qiao GH, Qi XH, et al. The regional comparative advantages of potato production in Inner Mongolia[J]. Journal of Arid Land Resources and Environment, 2016, 30(2): 128-132 (in Chinese)
- [2] Li ZP. The current situation of potato industry in Inner Mongolia and its restricting factors[J]. Inner Mongolia Agricultural Science and Technology, 2010(6): 7-9 (in Chinese)
- [3] Liu RJ, Chen YL. Mycorrhizology[M]. Beijing: Science and Technology Press, 2007 (in Chinese)
- [4] Smith SE, Read DJ. Mycorrhizal Symbiosis[M]. Cambridge, UK: Academic Press, 2008
- [5] Bothe H, Turnau K, Regvar M. The potential role of arbuscular mycorrhizal fungi in protecting endangered plants and habitats[J]. Mycorrhiza, 2010, 20(7): 445-457
- [6] Luo X. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with common wild plants in the drawdown zone of Three Gorges Reservoir[D]. Chongqing: Master's Thesis of Southwest University, 2015
- [7] Xu LJ, Hao ZP, Xie W, et al. Transmembrane H^+ and Ca^{2+} fluxes through extraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi in response to drought stress[J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2018, 42(7): 764-773 (in Chinese)
- [8] Liu Q, Gao YN, Liu X, et al. Effects of inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia on growth of *Medicago sativa* under saline-alkaline stress[J]. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(17): 6143-6155 (in Chinese)
- [9] Harris-Valle C, Esqueda M, Gutiérrez A, et al. Physiological response of *Cucurbita pepo* var. *pepo* mycorrhized by Sonoran desert native arbuscular fungi to drought and salinity stresses[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2018, 49(1): 45-53
- [10] Hashem A, Abd_Allah EF, Alqarawi AA, et al. Induction of osmoregulation and modulation of salt stress in *Acacia gerrardii* Benth. by arbuscular mycorrhizal fungi and *Bacillus subtilis* (BERA 71)[J]. BioMed Research International, 2016, 2016: 6294098
- [11] Abd_Allah EF, Hashem A, Alqarawi AA, et al. Enhancing growth performance and systemic acquired resistance of medicinal plant *Sesbania sesban* (L.) Merr using arbuscular

- mycorrhizal fungi under salt stress[J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2015, 22(3): 274-283
- [12] Liu ZL, Li YJ, Ma LN, et al. Coordinated regulation of arbuscular mycorrhizal fungi and soybean MAPK pathway genes improved mycorrhizal soybean drought tolerance[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2015, 28(4): 408-419
- [13] Pozo MJ, Cordier C, Dumas-Gaudot E, et al. Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to *Phytophthora infection* in tomato plants[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(368): 525-534
- [14] He ZQ, He CX, Zhang ZB, et al. Physiological study of tomato growth effects induced by different arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) strains[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2006, 37(3): 308-312 (in Chinese)
贺忠群, 贺超兴, 张志斌, 等. 不同丛枝菌根真菌对番茄生长及相关生理因素的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2006, 37(3): 308-312
- [15] Zhang Y, Zeng M, Xiong BQ, et al. Ecological significance of arbuscular mycorrhiza biotechnology in modern agricultural system[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2003, 14(4): 613-617 (in Chinese)
张勇, 曾明, 熊丙全, 等. 丛枝菌根(AM)生物技术在现代农业体系中的生态意义[J]. 应用生态学报, 2003, 14(4): 613-617
- [16] Qin Y, Ma K, Liu P. Effect of potato continuous cropping on genetic diversity of soil microorganisms[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2015, 23(2): 225-232 (in Chinese)
秦越, 马琨, 刘萍. 马铃薯连作栽培对土壤微生物多样性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(2): 225-232
- [17] Bai DS, Zhang SM, Sun LB. Effect of inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and yield of micro propagated potato[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2011(1): 80-82 (in Chinese)
白灯莎·买买提艾力, 张少民, 孙良斌. 接种丛枝菌根真菌对脱毒马铃薯微型薯生长及产量的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2011(1): 80-82
- [18] Kaya C, Higgs D, Kirnak H, et al. Mycorrhizal colonisation improves fruit yield and water use efficiency in watermelon (*Citrullus lanatus* Thunb.) grown under well-watered and water-stressed conditions[J]. Plant and Soil, 2003, 253(2): 287-292
- [19] Peng YC, Liu T, Zhao JJ, et al. Research advances in effect of continuous cropping on soil characteristics[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2009, 21(9): 100-103 (in Chinese)
彭有才, 刘挺, 赵俊杰, 等. 连作对土壤性状影响的研究进展[J]. 江西农业学报, 2009, 21(9): 100-103
- [20] Ma L. Effect of potato's continuous cropping and diversity regulation on soil microorganisms[D]. Yinchuan: Master's Thesis of Ningxia University, 2014
马玲. 马铃薯连作栽培及多样性调控对土壤微生物的影响[D]. 银川: 宁夏大学硕士学位论文, 2014
- [21] Krüger M, Stockinger H, Krüger C, et al. DNA-based species level detection of *Glomeromycota*: one PCR primer set for all arbuscular mycorrhizal fungi[J]. New Phytologist, 2009, 183(1): 212-223
- [22] Xu Q, Zhang F, Xu ZQ, et al. Some characteristics of Simpson index and the Shannon-Wiener index and their dilution effect[J]. Pratacultural Science, 2011, 28(4): 527-531 (in Chinese)
许晴, 张放, 许中旗, 等. Simpson 指数和 Shannon-Wiener 指数若干特征的分析及“稀释效应”[J]. 草业科学, 2011, 28(4): 527-531
- [23] Enwall K, Nyberg K, Bertilsson S, et al. Long-term impact of fertilization on activity and composition of bacterial communities and metabolic guilds in agricultural soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(1): 106-115
- [24] Crecchio C, Gelsomino A, Ambrosoli R, et al. Functional and molecular responses of soil microbial communities under differing soil management practices[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(11): 1873-1883
- [25] Clegg CD, Lovell RDL, Hobbs PJ. The impact of grassland management regime on the community structure of selected bacterial groups in soils[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2003, 43(2): 263-270
- [26] Cruz AF, Hamel C, Hanson K, et al. Thirty-seven years of soil nitrogen and phosphorus fertility management shapes the structure and function of the soil microbial community in a Brown Chernozem[J]. Plant and Soil, 2009, 315(1/2): 173-184
- [27] Jense A, Jakobsen I. The occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhiza in barley and wheat grown in some Danish soils with different fertilizer treatment[J]. Plant and Soil, 1980, 55(3): 403-414
- [28] Oehl F, Sieverding E, Mäder P, et al. Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Oecologia, 2004, 138(4): 574-583
- [29] Gryndler M, Larsen J, Hřelová H, et al. Organic and mineral fertilization, respectively, increase and decrease the development of external mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi in a long-term field experiment[J]. Mycorrhiza, 2006, 16(3): 159-166
- [30] Feng Y, Meng ML, Ma H, et al. Absorption and distribution of N, P, K and S in various varieties of potato[J]. Chinese Potato Journal, 2008, 22(4): 205-209 (in Chinese)
冯琰, 蒙美莲, 马恢, 等. 马铃薯不同品种氮、磷、钾与硫素吸收规律的研究[J]. 中国马铃薯, 2008, 22(4): 205-209