

# 丛枝菌根真菌对红花根围微生物 多样性特征的影响

郭欢 曾广萍 刘红玲 刘斌 马晓丽 张霞\*

(石河子大学 生命科学学院 新疆 石河子 832000)

**摘要:**【目的】研究丛枝菌根(Arbuscular mycorrhiza, AM)真菌对红花根围微生物多样性特征的影响。【方法】对红花接种 *Glomus mosseae*、*G. intraradices* 和混合菌(*G. mosseae*、*G. intraradices*、*G. cladoideum*、*G. microagregatum*、*G. caledonium*、*G. etunicatum*) 3种 AM 真菌,采用传统的平板稀释涂布法对红花根围细菌、真菌、放线菌进行分离、培养、计数和鉴定,并结合单链构象多态性(Single strand conformational polymorphism, SSCP)分析技术对红花根围微生物多样性进行分析。【结果】3处理与对照组红花根围微生物总量表现为 *G. mosseae*>*G. intraradices*>混合菌>对照,且接种处理红花根围微生物总量显著高于对照。对照组红花各生长期微生物总量均为 0–5 cm>5 cm–10 cm>10 cm–20 cm,接种处理红花生长至种子成熟期时不同土层微生物数量发生变化,微生物总量为 5 cm–10 cm>0–5 cm>10 cm–20 cm。聚类分析发现微生物出现接种红花类群与不接种红花类群两大分类类群。【结论】AM 真菌从时间和空间上影响了红花根围微生物的多样性特征,对红花农业生产和分析生态系统中微生物之间的相互作用具有重要的理论和实践价值。

**关键词:** AM 真菌, 红花, 根围微生物, 多样性

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31160410); 人社部留学人员科技活动择优资助项目(No. 2011LX005); 国家973 计划项目(No. 2009CB825101)

\*通讯作者: ✉: xiazh@shzu.edu.cn

收稿日期: 2012-09-24; 接受日期: 2012-12-17

# How arbuscular mycorrhiza fungi affect on rhizosphere microbe diversity of *Carthamus tinctorius* L. in Xinjiang

GUO Huan ZENG Guang-Ping LIU Hong-Ling LIU Bin  
MA Xiao-Li ZHANG Xia\*

(The College of Life Sciences, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000, China)

**Abstract:** [Objective] Demonstrate the effects of arbuscular mycorrhiza (AM) fungi on *Carthamus tinctorius* L. rhizosphere microbe diversity. [Methods] Dilution cultural and PCR-single strand conformational polymorphism (SSCP) were used for determining rhizosphere microbe exist in the ambient of inoculated AM fungi plants *Carthamus tinctorius* L. or named safflower as well. Target safflowers were inoculated with *Glomus mosseae*, *G. intraradices* and mixed group (*G. mosseae*, *G. intraradices*, *G. cladoideum*, *G. microagregatum*, *G. caledonium* and *G. etunicatum*), respectively. [Results] Total number of rhizosphere microbe around treated safflower shows an order of *G. mosseae*>*G. intraradices*>Mix. Compared with control group, inoculated group has larger quantity ( $P<0.05$ ) of total microbe number according the order of 0–5 cm>5 cm–10 cm>10 cm–20 cm in most of its growth stages. Inoculated safflower, however, showed differ microbial quantity along soil vertical profile as 5 cm–10 cm>0–5 cm>10 cm–20 cm. Clustering analysis confirmed exist as inoculation and non-inoculation plant microbial groups. [Conclusion] AM fungi have an affected on the variation pattern of rhizosphere microbe diversity of safflower by temporally and spatially varieties. This patterns not only can help us easy understanding the significance function of microbe exist in terrestrial ecosystem, could also support as a guidance in appropriate cultivation strategy on agricultural production the near future.

**Keywords:** AM fungi, *Carthamus tinctorius* L., Microbe of rhizosphere, Diversity

土壤微生物是土壤生态系统中极其重要和最为活跃的部分<sup>[1]</sup>, 在土壤养分转化循环、系统稳定性和抗干扰能力以及土壤可持续生产中占据主导地位, 控制着土壤生态系统功能的关键过程<sup>[2]</sup>。丛枝菌根(Arbuscular mycorrhiza, AM)真菌是陆地上分布最广泛的一类菌根, 能够与80%以上的维管植物建立共生关系并形成AM菌根<sup>[3]</sup>, 菌根周围栖息着大量细菌、真菌、放线菌、线虫和原生动动物等, 这些土壤微生物之间存在着各种相

互作用关系<sup>[4]</sup>。AM真菌具有提高植物抗旱性、抗病性、促进生长、提高产量、改善作物矿质营养、影响植物根围微生物多样性的作用, 因此被誉为“生物肥料”<sup>[5]</sup>。

目前红花已成为新疆“红色产业”中的支柱作物<sup>[6]</sup>, 一直以来红花以其卓越的药用和经济价值受到国内外研究者的关注。本研究以植物-菌根-微生物多样性为研究切入点, 采用传统的平板稀释涂布法对红花根围细菌、真菌、放线菌三大菌

群分离、培养、计数、鉴定,并结合单链构象多态性(Single strand conformational polymorphism, SSCP)分析技术对接种红花与非接种红花根围微生物多样性进行分析,探究接种 AM 真菌的红花根围土壤微生物群落多样性与对照之间的差异,为红花的病虫害防治和 AM 真菌菌剂化农业生产提供一定的理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

**1.1.1 供试菌种:** *Glomus mosseae* (*G. m*)、*Glomus intraradices* (*G. i*)和混合菌种(*G. mosseae*、*G. intraradices*、*G. cladoideum*、*G. microagregatum*、*G. caledonium* 和 *G. etunicatum*, Mix)。分别由青岛农业大学菌根生物技术研究所刘润进和捷克共和国“Symbio-m”菌种公司提供。

**1.1.2 供试植物:** 红花(*Carthamus tinctorius* L.)种子,品种为“裕民无刺”,产地新疆石河子。

**1.1.3 研究区概况:** 研究区设在石河子大学节水灌溉试验站(兵团灌溉试验站石河子大学分站)(北纬 40°16′58.4″–46°43′31.8″,东经 82°30′32.1″–89°01′02.2″),此区域属典型大陆性干旱半干旱气候,样地具体概况见表 1。

### 1.2 方 法

**1.2.1 红花幼苗室内培养:** 在塑料盆(3 g/L 的高锰酸钾消毒 3 h,直径 21 cm,高 14 cm)中装入灭菌土壤 4 kg (pH 7.26,有机质 99.8 g/kg,速效氮 35.9 mg/kg,速效磷 6.5 mg/kg,速效钾

155 mg/kg),试验前将土壤分装,干热烘箱中 160 °C 灭菌 2 h,自然冷却后再次灭菌 2 h(经平板测验法检测土壤为无菌)。接种处理每盆穴施菌剂 5.0 g,对照组处理每盆加等量灭菌菌剂(方法参照冯固等<sup>[7]</sup>方法),每盆播种灭菌红花种子 10 粒(方法参照杨晶等<sup>[8]</sup>方法),无菌水浇灌培养。以接种 *G. m*、*G. i*、Mix 3 种菌种作为处理(+M),不接种任何菌株的植株(-M)作为对照。发芽 40 d 后采用根段频率常规法检测<sup>[4]</sup>红花幼苗根系是否侵染,结果显示侵染成功。接种植株菌根侵染率:*G. m* 为 45%、*G. i* 为 38%、Mix 为 40%,对照组无侵染。

**1.2.2 红花大田培养:** 将红花幼苗移栽至试验田,试验田分四大区域“田”字布置,四区域间用 1 m 的步道隔开,每区域种植 8 行,行距 40 cm,株距 20 cm,整个试验地四周设 2.5 m 缓冲隔离带,试验地规格 17.8 m×5.8 m,面积 103.24 m<sup>2</sup>。一个区域移栽对照组红花幼苗,另 3 个区域分别移栽接种 *G. m*、*G. i* 和 Mix 的红花幼苗,试验站灌溉水灌溉。

**1.2.3 土壤样品的采集方法:** 在红花莲座期(5 月 29 日)、伸长期(6 月 20 日)、盛花期(7 月 15 日)和种子成熟期(8 月 3 日)采用多点混合取样法,取红花根围 0–5 cm、5 cm–10 cm 和 10 cm–20 cm 3 种深度范围内的土壤样品,用灭菌牛皮纸袋带回实验室,过 1 mm 筛后分装为两份,分别放 4 °C (微生物培养)和–20 °C (总 DNA 提取)冰箱保存。

表 1 研究区土壤环境因子概况

Table 1 Environmental variables in *Carthamus tinctorius* soil in study area

地区 Region	含水量 Soil moisture (%)	pH	电导率 Conductivity (μs/cm)	有机质 Organic matter (g/kg)	速效氮 Available nitrogen (mg/kg)	速效磷 Available phosphorus (mg/kg)	速效钾 Available potassium (mg/kg)
石大实验站 Experimental station	9.05±2.03	8.52±0.13	502.31±43.30	27.98±2.09	0.151 5±0.086 1	0.1120±0.046 1	44.40±5.01

**1.2.4 实验方法:** 可培养微生物的分离、培养、计数采用传统平板稀释涂布法。细菌: 牛肉膏蛋白胨培养基; 放线菌: 高氏 I 号培养基; 真菌: 马丁(Martin)琼脂培养基。每一处理设 3 个重复, 3 个稀释度。接种后, 置 28 °C–30 °C 的无菌培养室内培养, 将所得微生物纯化后采用菌落 PCR 方法鉴定, PCR 产物送上海华大基因技术服务公司测序, 测序结果在 NCBI 基因文库中进行序列比对。

土壤样品基因组 DNA 提取使用美国 MOBIO 土壤微生物 DNA 强力提取试剂盒 PowerSoil DNA Isolation Kit, PCR 扩增采用适用于多数细菌及土壤细菌的 16S rDNA V3 区的通用引物 8F/1492R 和 F338GC/R518, PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测后进行单链构象多态性(SSCP)检测。

统计分析采用 EXCEL、SSPS 17.0、Quantity One、Bio-Rad 及 DPS 软件分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同处理对红花根围可培养微生物的影响

**2.1.1 红花根围土壤微生物主要类群分布:** 如表 2 所示, 不同处理的红花根围土壤微生物存在差异, 接种处理红花根围土壤微生物总量显著高于对照。其中, 细菌作为土壤微生物的重要组成部分, 其分布与微生物总量分布一致, 接种处理红花根围细菌数量显著高于对照( $P<0.05$ )。以接种混合菌的红花盛花期为例, 细菌:放线菌:真菌=1 240:256:1, 细菌在土壤微生物组成中占绝对优势(82.83%), 放线菌次之, 真菌最少。由表 2 可知, 接种处理细菌平均值:  $G. m>G. i>Mix$ ; 放线菌分布

表 2 不同 AM 对红花根围土壤微生物种群数量的影响  
Table 2 The soil microbe quantity of *Carthamus tinctorius* field in different AM fungi

采样时期 Period	处理 Treatments	细菌 Bacteria ( $\times 10^5$ CFU/g)	放线菌 Actinomycete ( $\times 10^5$ CFU/g)	真菌 Fungi ( $\times 10^5$ CFU/g)	微生物总数 Total number of mi- croorganism ( $\times 10^5$ CFU/g)	细菌/真菌 Bacteria/Fungi
莲座期 Rosette stage	-M	56.00a	8.10a	0.021 5a	64.17a	783.22a
	<i>G. m</i>	79.40ab	13.20a	0.029 8a	92.67ab	1 137.54b
	<i>G. i</i>	78.60ab	15.60a	0.015 7a	94.22ab	5 006.37h
	Mix	106.80bc	17.10ab	0.022 1a	123.92b	4 832.58g
伸长期 Elongating stage	-M	139.40c	34.90c	0.107 0b	174.41c	1 302.80cd
	<i>G. m</i>	175.80de	30.10c	0.086 0b	205.99cd	2 044.19f
	<i>G. i</i>	136.80c	21.50b	0.171 4cd	158.47bc	798.13a
盛花期 Full-bloom stage	Mix	178.90de	15.70a	0.105 0b	194.71cd	1 703.81e
	-M	120.50c	36.90cd	0.107 5b	157.51bc	1 120.93b
	<i>G. m</i>	261.10fg	47.80d	0.208 8e	309.11ef	1 250.48bc
	<i>G. i</i>	285.00g	40.10d	0.231 5e	325.33fg	1 231.10bc
种子成熟期 Seed stage	Mix	203.40e	42.00d	0.164 0cd	245.56d	1 240.24bc
	-M	277.80g	50.80f	0.162 5cd	328.76fg	1 709.54e
	<i>G. m</i>	273.30g	50.60f	0.159 6c	324.06fg	1 712.41e
	<i>G. i</i>	302.50h	59.10fg	0.223 7e	361.82g	1 352.26cd
	Mix	246.00f	48.00de	0.152 0cd	294.15e	1 618.42de

注: 不同小写字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )。

Note: Different small letters in the same row are significantly different at the 0.05 level.

未表现出较统一趋势; 真菌数量:  $G. i > Mix > G. m$ ; 微生物总量:  $G. m > G. i > Mix$ 。可见不同 AM 真菌对不同种微生物数量的影响存在一定差异性。

**2.1.2 红花根围土壤微生物垂直分布:** 如图 1 所示, 各处理红花根围不同深度土壤微生物数量存在一定差异, 红花根围不同土层微生物总量随深度的增加有明显降低趋势:  $0-5\text{ cm} > 5\text{ cm}-10\text{ cm} > 10\text{ cm}-20\text{ cm}$ 。但在种子成熟期, 接种处理

红花根围不同土层间微生物总数发生变化, 其变化后平均值为:  $5\text{ cm}-10\text{ cm} > 0-5\text{ cm} > 10\text{ cm}-20\text{ cm}$ , 可见 AM 真菌可以影响微生物垂直分布。

**2.1.3 红花根围土壤细菌鉴定:** 不同处理红花根围土壤中分离出 20 种优势细菌(表 3), 测序结果相似度范围为 98%–100%, 序列相似度达到 97% 以上时可归为同一种, 同源性达到 95% 以上可归为同一属。结果显示, 分离得到的细菌种类中以

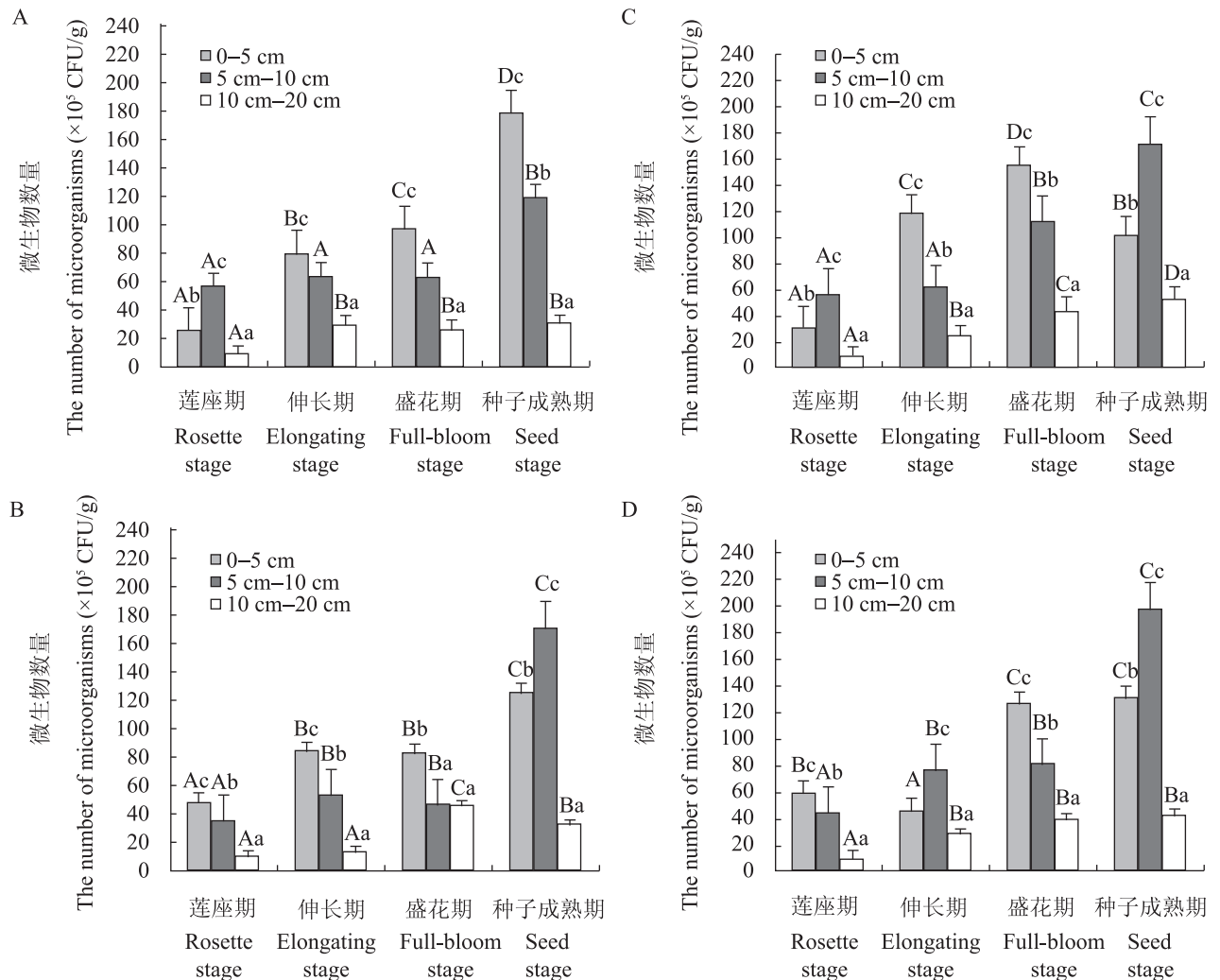


图 1 不同处理红花根围微生物数量变化

Fig. 1 The number change of safflower rhizosphere microorganisms microbial

注: A: 对照; B: 接种 *G. m*; C: 接种 *G. i*; D: 接种 Mix. 不同大写字母表示土壤微生物数量在不同时期差异极显著( $P < 0.01$ ), 不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ).

Note: A: Control; B: Inoculated with *G. m*; C: Inoculated with *G. i*; D: Inoculated with Mix. Different capital letters are extremely significantly different at the 0.01 level. Different small letters are significantly different at the 0.05 level.

表 3 细菌测序比对结果  
Table 3 Sequence alignment with blast

细菌 Bacteria	对比结果 Most similar sequence	相似度 Similarity (%)	登录号 Accession No.
1	<i>Alcaligenes</i> sp. CRR1 27 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	JN256919
2	<i>Bacillus licheniformis</i> strain YC3-A 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	HQ634209
3	<i>Bacillus pumilus</i> strain BUME23 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	HQ827826
4	<i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. faecalis strain persicum 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	98	GQ495222
5	<i>Bacterium</i> YCY6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100	JF775438
6	<i>Pseudomonas</i> sp. BRB7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100	JF778678
7	<i>Actinobacterium</i> ZXY024 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	JN049473
8	<i>Bacillus cereus</i> strain AIMST 8.J8.1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	HQ694179
9	<i>Bacillus cereus</i> isolate EGU258 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100	EF633274
10	<i>Acinetobacter lwoffii</i> strain DR-A6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100	JN712170
11	<i>Bacillus thuringiensis</i> strain CPB111 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100	JN896993
12	<i>Variovorax paradoxus</i> gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: DSM 30162	100	AB622223
13	<i>Bacillus atropheus</i> strain HT22 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	98	JN013207
14	<i>Bacillus</i> sp. CCBAU 10927 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	JF772570
15	<i>Bacterium</i> UASWS0134 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	DQ190347
16	<i>Bacillus atropheus</i> strain HT22 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	98	JN013207
17	<i>Bacillus</i> sp. LPPA 1479 partial 16S rRNA gene, strain LPPA 1479	100	HE613375
18	<i>Bacillus</i> sp. MJ516 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100	GU933517
19	<i>Bacillus</i> sp. TN107 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	99	JN800333
20	<i>Bacterium</i> UASWS0134 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100	DQ190347

编号为13–20号的芽孢杆菌(*Bacillus* sp.)为优势菌种, 据实验数据统计接种 AM 真菌红花根围土壤中这两类细菌出现频率较高数量较多。

## 2.2 不同处理红花根围土壤微生物群落多样性分析

### 2.2.1 不同处理红花根围土壤微生物群落 PCR-SSCP 分析:

以土壤总 DNA 为模板, 对细菌的 16S rRNA 基因高度变异的 V3 区进行扩增, 再进行 SSCP 得到的图谱可以反映细菌群落结构的细微变化。从图 2 的 SSCP 电泳图谱可以看出, 各土样的 SSCP 图谱中条带亮度和数量各不相同, 由 PCR-SSCP 电泳模式图(图 3)可知接种 AM 真菌的 2、4、6、7、10、12 号土样条带数目及分

布相似度较高, 而对照组的 1、5、9 号土样与标准样品 8 号土样比对相似度均低于 50%, 且条带数目也少于接菌处理组, 表明接菌处理与对照组红花根围土壤微生物存在差异, 这也进一步证实了平板计数的结果。

### 2.2.2 不同处理红花根围土壤微生物群落结构 Shannon-Wiener 多样性指数分析:

多样性指数是研究群落物种数和个体数及其分布均匀度的综合指标。根据电泳图谱中每个条带的数目, 通过 Shannon-Wiener 多样性指数对电泳图谱进行分析可以进一步了解各土样中微生物的多样性。由图 4 可知, 多样性指数最高的种子成熟期 14、15、16 号样品为 2.0–2.2 左右, 最低的为莲座期 1 号

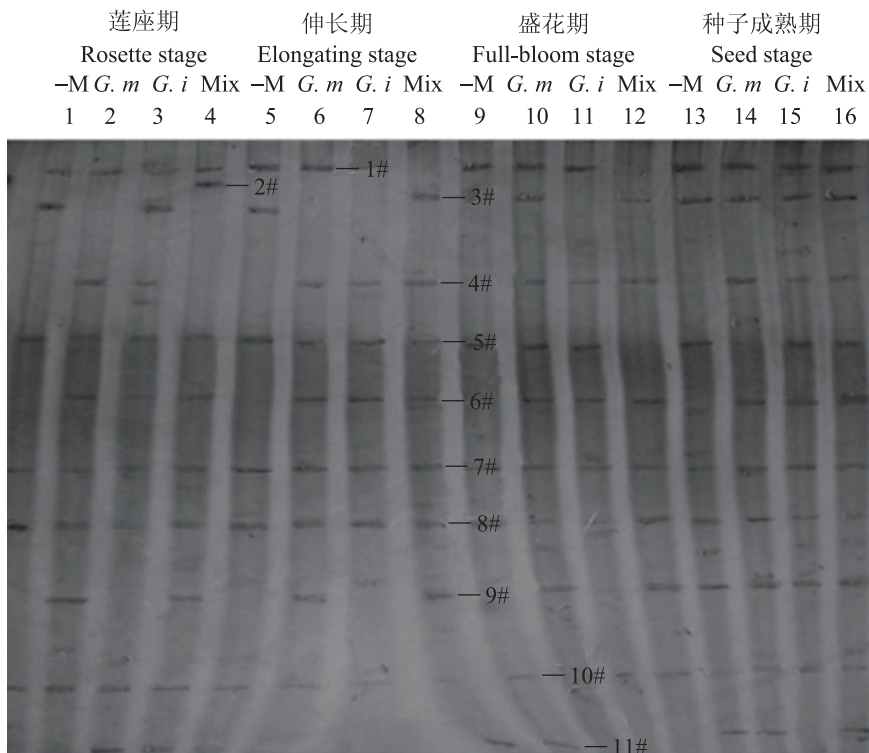


图 2 不同处理红花根围细菌群落结构 PCR-SSCP 电泳图谱  
 Fig. 2 PCR-SSCP electrophoresis pattern of different processing safflower rhizosphere bacterial community structure

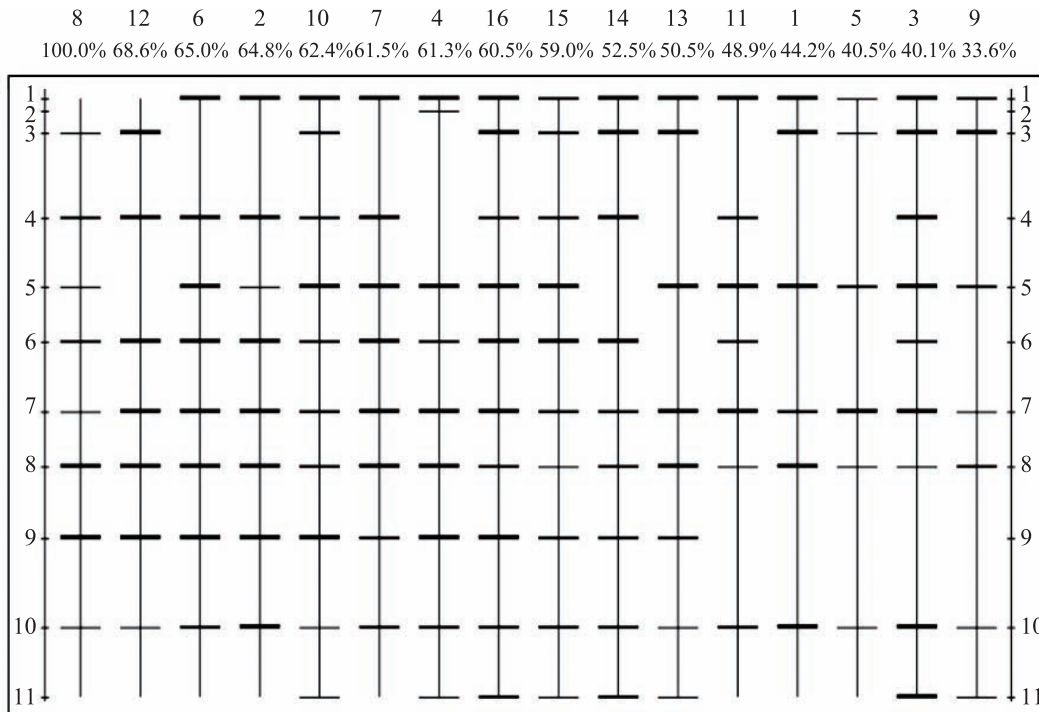


图 3 不同处理红花根围细菌群落结构 PCR-SSCP 电泳模式图谱  
 Fig. 3 PCR-SSCP electrophoresis mode pattern of different processing safflower rhizosphere bacterial community structure

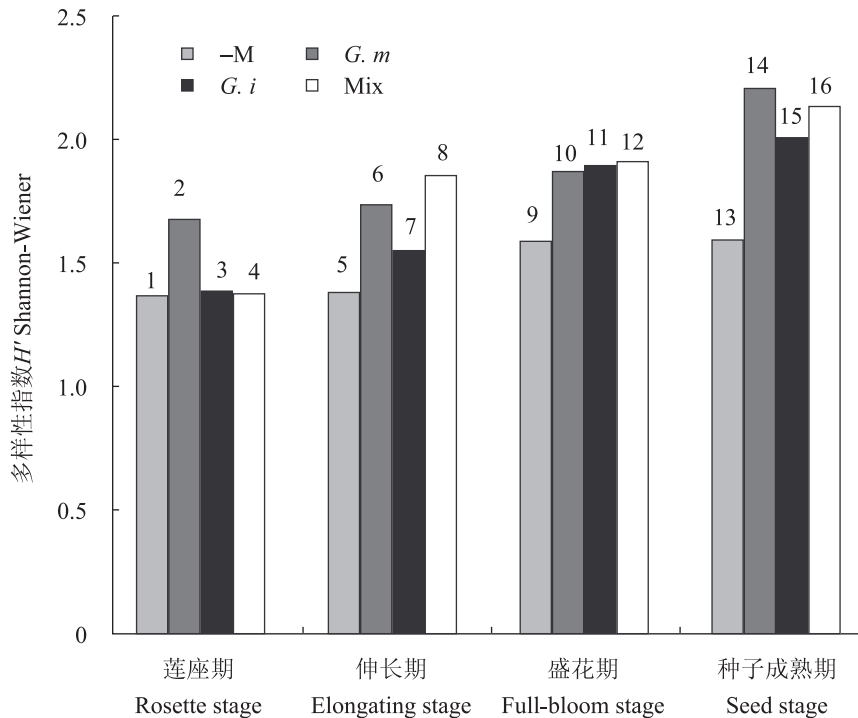


图 4 不同处理红花根围土壤细菌的 Shannon-Wiener 多样性指数变化

Fig. 4 Shannon-Wiener diversity index of bacterial in different processing safflower rhizosphere

样品为 1.37。伸长期至种子成熟期接种红花土壤样品的多样性指数显著高于对照。同一时期, 不同接种处理间也存在一定差异, 例如在伸长期时接种 *G. m* 和 Mix 的红花土壤多样性都高于接种 *G. i* 菌种。从红花生长的整个时期来看, 对照组红花根围土壤微生物多样性从莲座期至种子成熟期变化不大, 且相对保持在较低水平, 而接种 AM 真菌的红花根围土壤微生物多样性指数随生长期逐步提高。

**2.2.3 不同处理红花土壤样品的聚类分析:** 根据以上 SSCP 图谱结果按照 UPGMA 算法对图谱进行细菌群落相似性聚类分析, 如图 5 和表 4 所示。总体上看, 不同处理红花整个生长期根围土壤样品中细菌群落的相似性在 51%–84%, 说明各样品细菌的种群结构均有差异。对照组 5 号和 9 号样品聚类在一起相似度达到 60%; 1、13、8、12 号样品分别聚类在一起相似度达到 70% 左右。接种

处理除 8 号和 12 号样品外, 其余土样 2、3、4、6、7、10、11、14、15、16 号样品聚为一类, 显示出由于对红花的不同处理而产生两大分类类群, 即接种红花类群与不接种红花类群。

### 3 讨论

1978 年 Bagyaraj 和 Menge<sup>[9]</sup>首次发现接种了 AM 真菌的马铃薯植株根围细菌和放线菌的数量均增加。1994 年顾向阳等<sup>[10]</sup>研究了 AM 真菌对棉花根围微生物数量的影响, 发现在棉花生长的中后期接种 AM 真菌植株生长量和微生物数量明显超过未接种植株。本研究首次对药用植物红花接种 AM 真菌结果同样表明随着红花生长期的延长, 接种 AM 真菌与对照组红花根围微生物的数量都呈上升趋势, 且不同 AM 真菌对不同种微生物数量的影响也存在一定的差异性。在土壤垂直层面上, 不同土层微生物数量的分布基本随深度



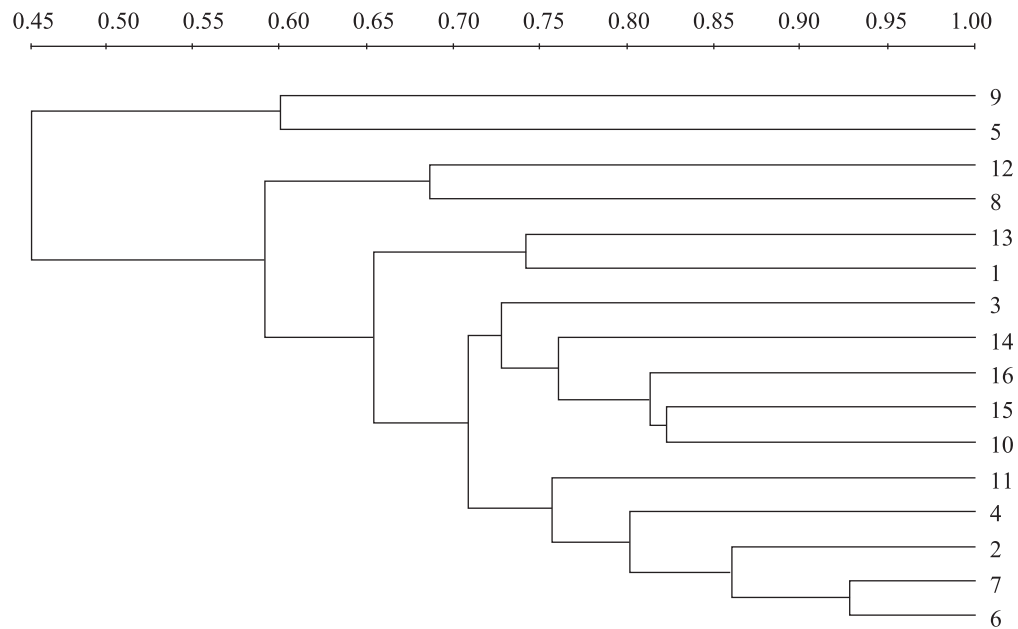


图 5 不同处理红花根围土样 SSCP 图谱条带的聚类分析

Fig. 5 Cluster dendrogram analysis of SSCP map bands of different processing safflower rhizosphere

表 4 PCR-SSCP 图谱的相似分析  
Table 4 Similarity analysis of PCR-SSCP patterns

Lane	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1	100															
2	54.5															
3	70.0	59.9														
4	66.5	74.4	62.1													
5	52.0	41.2	51.8	47.6												
6	60.0	86.5	65.6	84.7	43.6											
7	61.2	85.6	67.4	81.6	48.3	92.9										
8	44.2	64.8	40.1	61.3	40.5	65.0	61.5									
9	66.7	28.1	54.4	38.0	60.2	31.4	31.3	33.6								
10	63.1	67.2	71.7	68.3	48.0	76.4	76.8	62.4	54.9							
11	58.5	70.9	70.9	67.8	53.1	81.1	83.1	48.9	38.2	77.7						
12	44.1	77.5	51.8	57.5	40.7	71.1	71.4	68.6	30.6	63.4	50.7					
13	74.3	59.3	67.7	73.3	59.9	69.0	73.4	50.5	59.3	76.3	59.3	57.7				
14	61.1	74.2	72.4	59.4	36.6	69.4	70.3	52.5	49.9	75.4	66.3	70.4	66.0			
15	64.5	66.7	70.0	72.1	49.8	76.5	75.1	59.0	52.0	82.3	75.2	61.7	68.3	73.3		
16	59.8	74.8	76.9	70.9	50.6	80.7	79.3	60.5	48.3	81.0	70.7	73.7	77.1	79.7	81.9	100

的增加而减少,这与邵玉琴等<sup>[11]</sup>、郭继勋等<sup>[12]</sup>研究结果一致,但在红花的种子成熟期接种处理红花根围不同土层间微生物总数发生变化,表明AM真菌影响了红花根围微生物的垂直分布,但具体原因还需进一步研究。

红花常见病害,如球腐病、根腐病、锈病等随着种植年限延长而愈加严重,其致病原因主要是土壤中一类真菌土传病原微生物引起,严重影响着红花的品质与产量<sup>[13]</sup>。研究表明AM真菌对根部病原菌有拮抗作用,且对根瘤菌、固氮菌等有益土壤微生物还有相互促进的作用<sup>[14]</sup>。枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)是普遍存在于土壤和植物生态系统中的优势微生物种群,由于其能产生抗逆性强的芽孢、便于培养、易于定殖和抗菌防病能力强等特点而逐步成为研究的热点,国内外许多性状优良的野生菌株已被成功地应用于多种植物病害的生物防治<sup>[15-16]</sup>。枯草芽孢杆菌在生长代谢过程中能够产生不同种类的拮抗物质,如抗菌蛋白<sup>[17]</sup>及细菌素<sup>[18]</sup>,它们通常对植物病原真菌具有显著的抑菌活性,对细菌、病毒和寄生虫也有一定的抑制效果<sup>[19]</sup>,本研究分离土壤样品中20种细菌进行基因测序,发现接种AM真菌的红花根围土壤中芽孢杆菌出现频率最高,由此表明接种AM真菌能够改善红花根围土壤微生物种群结构,可用于防治红花病害,但对于AM真菌与寄主共生后诱导植物抗病的分子机理,目前研究报道的还较少。因此,应用分子生物学技术、免疫和组织化学分析技术对上述问题进行系统深入的研究具有重要的意义。

SSCP图谱及聚类分析显示,与对照相比,接种AM真菌的红花土壤细菌多样性丰富,且微生物群落多样性指数随着红花生长期的推进而呈增加趋势。聚类结果显示形成两大类群,即接种红花类群与不接种红花类群。研究表明AM真菌能够改变根围微生物群落结构,其作用途径可能

有2个,即AM真菌菌丝的分泌物直接影响了微生物的群落结构,以及AM真菌改变了植株生理生化过程,使植株的根围分泌物发生改变,从而改变了微生物的群落结构<sup>[20]</sup>。潘超美等<sup>[21]</sup>的研究表明,AM真菌侵染玉米根系后,改善了玉米植株的营养条件,尤其是改善了磷的营养吸收,促进了玉米根系的生长和代谢。

AM真菌是土壤生态系统中广泛分布的微生物类群,本研究采用平板稀释法和ISSCP分析技术研究了丛枝菌根(AM)真菌对红花根围细菌、真菌和放线菌数量及SSCP条带多态性的影响,发现AM真菌作为一种生物资源,对红花根围微生物有着多方面的影响。研究AM真菌对根围微生物的作用及其对红花的影响,有利于利用和调控土壤微环境,促进红花生长,且在提高红花对营养物质的吸收和防治病害方面有着积极的作用,为指导农业生产和分析生态系统中微生物之间的相互作用提供了理论依据。针对红花忌连作这一红花发展的限制因子<sup>[22]</sup>,可进一步研究AM真菌对红花连作是否有调节作用,以期实现资源的可持续利用。

## 参 考 文 献

- [1] Jenkinson DS, Ladd JN. Microbial biomass in soil: measurement and turnover[C]. Soil Biochemistry. New York: Dekker, 1981: 415-471.
- [2] 李秀英,赵秉强,李絮花,等. 不同施肥制度对土壤微生物的影响及其与土壤肥力的关系[J]. 中国农业科学, 2005, 38(8): 1591-1599.
- [3] Schüßler A, Schwarzott D, Walker C. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution[J]. Mycological Research, 2001(105): 1413-1421.
- [4] 刘润进,陈应龙. 菌根学[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [5] 魏娜,贾钧彦,蔡晓布,等. AM真菌与植物的抗

- 旱性[J]. 西藏科技, 2008(8): 67-71.
- [6] 郑良军, 李发云, 李仁辉, 等. 新疆红花发展前景及对策[J]. 新疆农业科技, 2002(4): 7-8.
- [7] 李晓林, 冯固. 丛枝菌根生态生理[M]. 北京: 华文出版社, 2001.
- [8] 杨晶, 邵明龙, 李天航, 等. 新疆红花组织培养与快速繁殖的研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(8): 3439-3440.
- [9] Bagyaraj DJ, Menge JA. Interaction between a VA mycorrhizal fungus and *Zotobacter* and their effects on rhizosphere microflora and plant growth.[J]. *New Phytol*, 1978(80): 567-573.
- [10] 顾向阳. VA 菌根真菌 *Glomus mosseae* 对棉花根区微生物量和生物量的影响[J]. 生态学杂志, 1994, 13(2): 7-11.
- [11] 邵玉琴, 赵吉, 朱艳华. 科尔沁不同类型沙地土壤微生物类群的研究[J]. 内蒙古大学学报: 自然科学版, 2007, 38(6): 678-683.
- [12] 郭继勋, 祝廷成. 羊草草原土壤微生物的数量和生物量[J]. 生态学报, 1997(1): 78-82.
- [13] 卫云, 马书太. 中药种植新技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2009.
- [14] 朱丽梅, 徐超, 彭国丽. VA 菌根与植物病害[J]. 金陵科技学院学报, 2007, 23(1): 99-104.
- [15] Asaka O, Shoda M. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* Damping-Off of tomato with *Bacillus subtilis* RB14[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(11): 4081-4085.
- [16] Wulff EG, Mguni CM, Mortensen CN, et al. Biological control of black rot (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) of brassicas with an antagonistic strain of *Bacillus subtilis* in Zimbabwe[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2002, 108(4): 317-325.
- [17] Tong YR, Ma ZC, Chen WL, et al. Purification and partial characterization of antagonistic proteins from *Bacillus subtilis* B034[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 1999, 39(4): 339-343.
- [18] Chung S, Kong H, Buyer JS, et al. Isolation and partial characterization of *Bacillus subtilis* ME488 for suppression of soilborne pathogens of cucumber and pepper[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2008, 80(1): 115-123.
- [19] 高学文, 齐放军, 姚仕义. 枯草芽孢杆菌和苏云金芽孢杆菌的共培养及其对生物活性物质产生的影响[J]. 南京农业大学学报, 2003, 26(3): 32-35.
- [20] 朱红蕙, 龙良坤, 羊宋贞, 等. 真菌对青枯菌和根围细菌群落结构的影响[J]. 菌物学报, 2005, 24(1): 137-142.
- [21] 潘超美, 郭庆荣, 邱桥姐. VA 菌根真菌对玉米生长及根围土壤微生态环境的影响[J]. 土壤与环境, 2000, 9(4): 304-306.
- [22] 乔卿梅, 程茂高, 王新民. 根际微生物在克服药用植物连作障碍中的潜力[J]. 土壤通报, 2009, 40(4): 957-951.