

不同菌根真菌对蓝莓根际土壤微生物数量的影响

龚 娜, 肖 军, 杨 镇, 王 娜, 陈 珣, 杨 涛

(辽宁省农业科学院 微生物工程中心, 辽宁 沈阳 110161)

摘 要:以 2 株 YA、YD 有益促生菌为试材,以盆栽蓝莓为试验对象,采用微生物稀释培养法研究了接种(穴施)YA、YD 菌根真菌及土壤拌硫磺对根际土壤微生物数量和生物多样性的影响,以期复合微生态生物制剂的研制及其应用提供理论依据。结果表明:不同处理后土壤根际微生物各生理类群数量差异显著,接种菌根真菌后细菌数量减少,真菌数量增多,放线菌没有明显变化,接种后土壤微生物多样性指数有显著提高,其变化趋势与土壤微生物数量的变化趋势不一致。

关键词:菌根真菌;根际土壤;微生物数量;蓝莓

中图分类号:S 663.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)17-0175-03

菌根真菌在生态系统营养循环和物质循环过程中扮演着重要的角色,对植物的营养获取和生长具有十分重要的作用^[1]。根际作为根系、土壤界面的一个微环境,是土壤-根系-微生物三者紧密结合相互影响的场所。菌根真菌能通过改变根际土壤 pH 值以及根际营养等方面来调节根际微生物的种群和数量,表现出较明显的根际效应^[2-3];某些根际土壤微生物可通过与菌根真菌的相互作用,以特殊的方式影响菌根的形成并对宿主植物发生作用^[4]。因此,通过改善根际微生态环境来促进植物的生长、提高植物抗性等方面的研究正日益受到人们的重视。近年来,关于菌根与根际土壤微生物的互作关系已成为菌根学研究领域的热点之一。

在具有菌根真菌的土壤环境中,以往对植物促生作用的研究重点主要集中在菌根的作用上,而忽略了植物根际微生物对植物生长的影响。微生物是土壤中最活跃的部分,其种类、数量、生态分布及活性在很大程度上可以反映土壤肥力的状况与变化^[5-6],探究菌根真菌与根际土壤微生物的互作机理,将有助于更好地利用土壤微生物来提高菌根的促生作用,对提高作物产量、维持农林生态系统的稳定都具有重要作用。国外有很多研究表明,菌根真菌可直接或间接对根际微生物群落产生影响,使其数量发生变化,达到新的平衡,并提高它们的活性。基于自然界中真菌与越橘属植物间的独特作用关系,现利用前期试验筛选到的 2 株高效促生长菌株

YA、YD,采用盆栽试验法,探讨其接种初期对改善土壤微生态环境的影响,以期复合微生态生物制剂的研制及其应用提供理论依据和前期基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试的 2 株 YA、YD 有益促生真菌菌株由辽宁省农业科学院微生物工程中心提供。供试土壤样品于 2012 年 7 月末在辽宁省农业科学院温室内采集。采集 3 a 生盆栽蓝莓的根际土壤,铲除表面 1 cm 左右的表土,以避免地面微生物与土样混杂;根系周围 1 cm 的土壤视为根际土壤,多点采取重量大体相当的根际土壤样品,剔除石砾或植被残根等杂物,混匀后取一定数量装入无菌塑料袋低温下保存。取样点采取对角取样法。

1.2 试验方法

盆栽试验于 2012 年 5 月在辽宁省农业科学院温室内进行,该温室透光性良好,栽培盆规格为内径 30 cm、高 40 cm。试验盆栽土壤含全氮 1.3 g/kg、速效磷 25.9 mg/kg、速效钾 19.5 mg/kg。将 YA、YD 菌剂接种在盆栽蓝莓植株根际周围,分东南西北 4 处进行接种。每样处理 20 株,每株接种 20 mL 菌液,接种后覆土遮盖植株根系,按照常规方法进行肥水管理。硫磺拌土处理(LH)蓝莓种植土中施入 1 kg/m³,其它处理不加硫磺。

用于检验细菌培养基(A):牛肉膏蛋白胨培养基,牛肉膏 3.0 g,蛋白胨 10.0 g,NaCl 5.0 g,水 1 000 mL,琼脂 18 g,pH 7.0~7.2,灭菌后加入 50 μg/mL 的制霉菌素。

用于检验真菌培养基(B):孟加拉红培养基,蛋白胨 5 g,葡萄糖 10 g,K₂HPO₄ 1 g,MgSO₄·7H₂O 0.5 g,琼脂 20 g,1/3000 孟加拉红溶液 100 mL,蒸馏水 1 000 mL,pH 自然,灭菌后加入 1%链霉素。

第一作者简介:龚娜(1982-),女,硕士,助理研究员,现主要从事微生物工程及生物技术等研究工作。E-mail:doll52133@163.com。

责任作者:杨涛(1964-),男,博士,研究员,硕士生导师,现主要从事微生物等研究工作。

基金项目:辽宁省自然科学基金资助项目(201102100)。

收稿日期:2013-04-15

用于检验放线菌培养基(C):改良高氏I号培养基,可溶性淀粉 20.0 g,NaCl 0.5 g,KNO₃ 1.0 g,K₂HPO₄ 0.5 g,MgSO₄·7H₂O 0.5 g,FeSO₄·7H₂O 0.01 g,水 1 000 mL,琼脂 18.0 g,pH 7.2~7.4,灭菌后加入 150 mg/mL重铬酸钾。

1.3 项目测定

1.3.1 土壤微生物数量的测定 土壤微生物数量的测定采用稀释平板计数法^[7]。由于鉴定微生物的种类不同,选择性培养基的配方也不同。此外,在制备培养基时常加入抑制剂和指示剂,这些并不是细菌生长繁殖所必需的物质,而是选择、鉴定及判断结果的需要。细菌平板 32℃恒温培养 2 d,放线菌平板 28℃恒温培养 7 d,真菌平板 28℃恒温培养 4 d,取出培养平板,算出同一稀释度 3 个平板上的菌落平均数,并按下列公式进行计算:每毫升中菌落形成单位(cfu)=同一稀释度 3 次重复的平均菌落数×稀释倍数×5。

1.3.2 土壤微生物多样性指数 土壤微生物多样性指数计算公式^[8]:Shannon 指数: $H = -\sum P_i \ln P_i$ 。式中, P_i 为*i*类群个体数占总个体数的比例。

1.4 数据分析

采用 SPSS 统计软件,分别计算各测定指标的均方和标准偏差,并采用单因素方差分析对使用拌种剂处理与对照的差异显著性进行检验。

2 结果与分析

2.1 不同处理对土壤微生物数量及组成的影响

土壤微生物是土壤生物中最活跃的部分,它们参与土壤的有机质分解、腐殖质合成、养分转化和土壤的发育及形成,既是土壤中营养元素的“源”,又是营养元素的“库”,控制着土壤生态系统功能的关键过程^[9]。一般情况下,植物根际土壤微生物主要由细菌、放线菌和真菌组成,其中细菌的数量最多,放线菌居中,真菌最少。由表 1 可知,接种促生菌液改变了蓝莓根际微生物群落结构组成,使根际细菌数量显著减少,细菌数量依次为 LH>CK>YD>YA,LH 和 CK 显著高于 YD 和 YA,YD 和 YA 差异不显著,表明菌根形成初期,对根际细菌的增殖具有一定的抑制作用。真菌数量均有所增加,真菌数量依次为 YD>YA>LH>CK,YD 和 YA 显著高于 LH 和 CK。接种促生菌根基土壤的放线菌数量没有明显变化。

表 1 不同处理的根际土壤微生物数量

处理 Treatments	细菌 Bacteria /×10 ⁷ cfu·mL ⁻¹	真菌 Fungi /×10 ⁴ cfu·mL ⁻¹	放线菌 Actinomycetes /×10 ⁵ cfu·mL ⁻¹	微生物总数量 Total number /×10 ⁵ cfu·mL ⁻¹
YA	1.10cC	10.96bB	12.39aA	123.48cC
YD	1.52cC	12.10aA	18.3aA	171.18cC
LH	16.50aA	6.83cC	15.33aA	1 666.00aA
CK	11.00bB	5.75dD	15.69aA	1 146.26bB

2.2 不同处理对根际土壤微生物多样性的影响

生物多样性指数是描述生物类型数和均匀度的一个度量指标,它在一定程度上可反映生物群落中物种的丰富程度及其各类型间的分布比例。一般而言,一个群落中物种类型数越多,各类型间分布比例越均匀,该群落的生物多样性指数就越高^[10]。因此,除研究土壤微生物总量外,有必要对土壤微生物多样性指数进行研究。由图 1 可知,接种菌剂 YA、YD 后根际土壤微生物多样性指数显著高于 CK 和 LH,多样性指数 YD(0.3795)>YA(0.3766)>CK(0.1021)>LH(0.0558)。

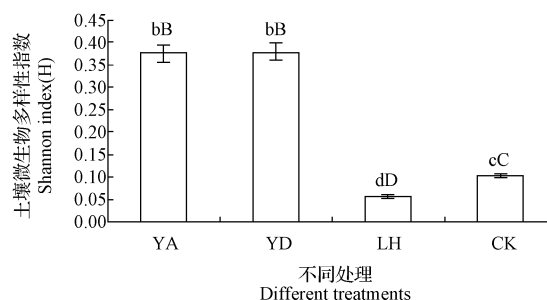


图 1 不同处理对根际土壤微生物多样性指数的影响

Fig. 1 Effect of different treatments on rhizosphere soil microbial diversity

土壤微生物群落结构和组成的多样性和均匀性不仅可提高土壤生态系统的稳定性与和谐性,同时也在一定程度上可提高土壤对微生态环境恶化状况的缓冲能力^[11-12]。由表 1、图 1 可知,不同处理根际土壤微生物多样性指数与土壤微生物总数量的变化趋势不一致,即微生物总数高的处理根际土壤,其多样性指数不一定高,如 LH 根际微生物数量最多,但微生物多样性指数并不是相应地最高。这可能是由于 LH 根际微域环境可能会适合于某一类或几类微生物的生长,而对其类群微生物的生存不一定产生影响,即对各类微生物的作用不同,结果使土壤中微生物总数可能很高,但其微生物多样性指数不一定高^[13]。

3 结论与讨论

植物生长过程中,其根际环境是土壤-植物-微生物相互作用、相互制约的界面和物质转化的活跃区域。而根际中的有益微生物在增加土壤肥力、改善根际环境、促进根系生长和防治植物病害等方面均有着积极的促进作用^[14-15],有益微生物可以改善植物营养,加快种子萌发速率和刺激根毛发育,从而有利于植物种群数量的扩大和植物正常生长。土壤中大多数微生物目前是不能培养的,但通过常规稀释平板法研究在有限条件下可培养的微生物三大类群数量分布,具有一定的代表性,对进一步探讨植物与微生物之间的关系具有重要作用。

该研究结果表明,接种促生菌液初期改变了蓝莓根际微生物群落结构组成,并且以细菌占绝对优势,放线菌次之,真菌最少。不同处理根际土壤微生物多样性指数与土壤微生物总数量的变化趋势不一致,即微生物总数高的处理根际土壤,其多样性指数不一定高。

探讨菌根真菌与根际土壤微生物之间的互作关系是揭示菌根促生抗逆作用机制的重要方面,大量研究已证实,菌根真菌能显著改善植物根际微生物的群落结构,而且某些根际微生物还可与菌根真菌发生协同作用,显著提高植物促生抗逆性^[16-17]。菌根真菌与土壤微生物之间的互作关系十分复杂,它们之间可相互促进、相互抑制或互不影响^[18]。目前已有部分关于菌根真菌与根际微生物相互作用之间的报道,但是还不够系统、深入,应从细胞水平和分子生物学水平探讨菌根真菌与根际微生物的机理、作用机制,进一步研究和深入了解菌根的微生态区系,更有效的调控菌根周围环境,促进生态系统的稳定。

(该文作者还有肇莹、王红,单位同第一作者。)

参考文献

- [1] Smith S E, Read D J. Mycorrhizal symbiosis [M]. London: Academic Press, 1997.
- [2] Petra M, Karen B. Changes in bacterial community structure induced by mycorrhizal colonisation in split-root maize [J]. Plant and Soil, 2003, 251: 279-289.
- [3] Andrade G, Mihara K L, Linderman R G, et al. Bacteria from rhizosphere and hyphospheres of different arbuscular-mycorrhizal fungi [J]. Plant Soil, 1997, 192: 71-79.
- [4] 史清华, 马养民, 秦虎强. 红柳根皮化学成分及杀虫活性的初步研究 [J]. 西北农业学报, 2005, 14(6): 141-144.
- [5] 单娜娜, 赖波. 风沙土成土演变过程中土壤微生物生物学特性研究进展与展望 [J]. 新疆环境保护, 2004, 26(增刊): 79-82.
- [6] 邓晓, 洪葵, 李勤奋, 等. 海南香蕉园土壤微生物与土壤因子的关系 [J]. 热带作物学报, 2010, 31(4): 530-535.
- [7] 中国科学院土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法 [M]. 北京: 科学出版社, 1985.
- [8] 严君, 韩晓增, 王树起, 等. 不同形态氮素对种植大豆土壤中微生物数量及酶活性的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(2): 341-347.
- [9] 侯彦林, 王曙光, 郭伟. 尿素施肥用量对土壤微生物和酶活性的影响 [J]. 土壤通报, 2004, 35(3): 303-306.
- [10] Susanne K, Veronica A M, Husein A. Microbial community composition and enzyme activities in a sandy loam soil after fumigation with methyl bromide or alternative biocides [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(6): 1243-1254.
- [11] 焦晓丹, 吴凤芝. 土壤微生物多样性研究方法的进展 [J]. 土壤通报, 2004, 35(6): 789-792.
- [12] 庄岩, 吴凤芝, 杨阳, 等. 轮作对黄瓜土壤微生物多样性及产量的影响 [J]. 中国农业科学, 2009, 42(1): 204-209.
- [13] 严君, 韩晓增, 王树起, 等. 不同形态氮素对种植大豆土壤中微生物数量及酶活性的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(2): 341-347.
- [14] Glick B R, Bashan Y. Genetic manipulation of plant growth promoting bacteria to enhance biocontrol of fungal phytopathogens [J]. Biotechnology Advances, 1997, 15(2): 353-378.
- [15] Cavicchioli R, Siddiqui K S, Andrews D, et al. Low temperature extremophiles and their applications [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2002, 13(3): 253-261.
- [16] Garbaye J. Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis [J]. New Phytol, 1994, 128: 197-210.
- [17] Barea J M, Azco'n R, Azco'n-Aguilar C. Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality [J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2002, 81: 343-351.
- [18] Linderman R G. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions [A]. In: Bethlenfalvay G J, Linderman R G, eds. Mycorrhizae in sustainable agriculture [C]. Madison Wisconsin: American Society Agronomy Special Publication, 1992: 45-70.

Effects of Different Mycorrhizal Fungi on Soil Microbial Number in the Blueberry Rhizosphere

GONG Na, XIAO Jun, YANG Zhen, WANG Na, CHEN Xun, YANG Tao, ZHAO Ying, WANG Hong

(Research Center of Microbial Engineering, Liaoning Academy of Agricultural Sciences, Shenyang, Liaoning 110161)

Abstract: Taking two different mycorrhizal fungi YA, YD as materials, using microbial dilution plate counting cultivation method, the effects of different mycorrhizal fungi on soil microbial number in the blueberry rhizosphere were studied with pot experiment, in order to provide the basis for development and application of mycorrhizal fungi. The results indicated that the number of microbial physiological groups in rhizosphere soil of different varieties under different treatments had significantly differences, and bacteria decreased, fungi increased with actinomycetes no significant change. Rhizosphere soil microbial diversity index of different treatments improved highly. Its change trend was not in accordance with microbial quantity.

Key words: mycorrhizal fungi; rhizosphere soil; microbial quantity; blueberry