

DOI:10.12171/j.1000-1522.20240213

内蒙古温带草地丛枝菌根真菌群落对 紫花苜蓿幼苗生长的影响

秦绍尉 张静 王伊乐 许宇航 周春菡 陈科宇 纪宝明

(北京林业大学草业与草原学院, 北京 100083)

摘要:【目的】探究天然草原丛枝菌根真菌(AMF)群落与紫花苜蓿幼苗之间的互惠共生机制,为筛选能够促进紫花苜蓿生长的乡土优质菌种资源提供理论依据。【方法】选用内蒙古温带草甸草原和典型草原 AMF 群落作为接种剂,同时设置不含有 AMF 的微生物滤液作为对照,分别对两种紫花苜蓿品种(北林 201 和中苜 1 号)进行接种。通过分析 AMF 群落与紫花苜蓿的互惠共生关系及其对植物幼苗生长发育和养分吸收的影响,评估天然草原 AMF 群落与紫花苜蓿幼苗的共生效应。【结果】(1)不同草地类型 AMF 群落组成和结构均存在显著差异,均能与不同品种的紫花苜蓿建立良好的共生关系;球囊霉属和近明球囊霉属是所有接种处理根系统中的优势菌属。(2)与不接种相比,AMF 群落接种能显著提高紫花苜蓿地上生物量和植物体内磷含量,但显著降低植物体内氮含量,尤其是在接种典型草原 AMF 群落后,紫花苜蓿的氮吸收效应表现为显著负效应,导致植物氮磷比显著降低($P < 0.05$);北林 201 紫花苜蓿接种后的菌根生长响应、磷吸收效应和氮吸收效应均显著优于中苜 1 号的接种效应。(3)北林 201 接种后的磷吸收效应与根内 AMF 多样性呈显著正相关关系($P < 0.05$),而中苜 1 号的磷吸收效应则与 AMF 多样性呈显著负相关关系($P < 0.05$),意味着多样化的 AMF 群落可能更有利于北林 201 对磷的吸收。【结论】天然草原 AMF 群落能够显著促进紫花苜蓿幼苗生长和磷元素吸收,但是这种生态功能受到紫花苜蓿品种特征的影响,AMF 群落组成在一定程度上决定了其生态功能的差异性。因此,在选择乡土 AMF 菌剂进行接种时,需要考虑紫花苜蓿品种与 AMF 群落之间的匹配性,以实现最佳的生产价值和生态效益。

关键词: 丛枝菌根真菌; 紫花苜蓿; 菌根效应; 草地微生物资源

中图分类号: S963.22+3.3; S812 文献标志码: A 文章编号: 1000-1522(2024)11-0053-09

引文格式: 秦绍尉,张静,王伊乐,等. 内蒙古温带草地丛枝菌根真菌群落对紫花苜蓿幼苗生长的影响 [J]. 北京林业大学学报, 2024, 46(11): 53-61. Qin Shaowei, Zhang Jing, Wang Yile, et al. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi from two temperate grassland types on *Medicago sativa* seedling growth in Inner Mongolia of northern China [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2024, 46(11): 53-61.

Influence of arbuscular mycorrhizal fungi from two temperate grassland types on *Medicago sativa* seedling growth in Inner Mongolia of northern China

Qin Shaowei Zhang Jing Wang Yile Xu Yuhang Zhou Chunhan Chen Keyu Ji Baoming

(School of Grassland Science, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: [Objective] This study aimed to investigate the mutualistic symbiotic mechanism between arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) communities from natural grasslands and *Medicago sativa* seedlings, providing a theoretical foundation for identifying suitable native high-quality microbial resources. [Method] We collected two AMF community inoculants from temperate meadow steppe and typical steppe in Inner Mongolia of northern China and used microbial filtrates without AMF propagules as controls. Two *M. sativa* varieties, Beilin 201 and Zhongmu No.1, were inoculated with these AMF communities. By

收稿日期: 2024-07-02 修回日期: 2024-07-11

基金项目: 北京林业大学大学生创新训练计划(S202310022253、S202310022254), 内蒙古自治区科技计划(2023KJHZ0021)。

第一作者: 秦绍尉。主要研究方向: 草地生态学。Email: qinshaowei@bjfu.edu.cn 地址: 100083 北京市海淀区清华东路 35 号北京林业大学草业与草原学院。

责任作者: 张静, 副教授。主要研究方向: 草地生态学。Email: zhangjing_2019@bjfu.edu.cn 地址: 同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

analyzing the symbiotic relationship between AMF community and *M. sativa* and their effects on seedling growth and nutrient absorption, we evaluated the symbiotic effect of AMF communities from natural grasslands on *M. sativa* seedlings. [Result] (1) There were significant differences in composition and structure of AMF communities from different grassland types, and all communities successfully established symbiotic relationships with two varieties of *M. sativa*. *Glomus* and *Claroideoglossum* were dominant genera in inoculated root systems. (2) Compared with no inoculation, AMF inoculation significantly increased the aboveground biomass and phosphorus content in plant tissues of *M. sativa*, but significantly reduced the nitrogen content in plant tissues but reduced nitrogen content. Notably, plants inoculated with AMF from the typical steppe exhibited a significant negative effect on nitrogen uptake, resulting in a significant decrease in plant nitrogen-to-phosphorus ratio ($P < 0.05$). The mycorrhizal growth response, phosphorus uptake effect, and nitrogen uptake of Beilin 201 were significantly greater than those of Zhongmu No. 1. (3) The mycorrhizal phosphorus uptake response of Beilin 201 after inoculation showed a significant positive correlation with the diversity of AMF within the roots, whereas the mycorrhizal phosphorus uptake response of Zhongmu No.1 exhibited a significant negative correlation with AMF diversity ($P < 0.05$), which means that a diverse diversity of AMF community may be more conducive to phosphorus uptake by Beilin 201. [Conclusion] The AMF community from natural grasslands can significantly promote the growth and phosphorus absorption of *M. sativa* seedlings, but this ecological function is influenced by characteristics of *M. sativa* varieties. The composition of AMF community plays a crucial role in determining these ecological functions. Therefore, when selecting native AMF community for inoculation, it is essential to consider the compatibility between plant varieties and AMF communities to maximize optimal production and ecological benefits.

Key words: arbuscular mycorrhizal fungi; *Medicago sativa*; mycorrhizal effect; grassland microbial resources

丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)是陆地生态系统中分布最广泛、功能最重要的一类土壤微生物功能群,能与约80%的维管植物建立互惠共生关系^[1]。宿主植物为AMF提供生命活动所需的碳源,AMF则通过其发达的根外菌丝网络为宿主植物提供矿质营养和水分,从而提高植物的生长速度和生产力。此外,AMF还能增强植物对生物和非生物胁迫的耐受性。因此,AMF在促进植物生长和维持生态系统稳定性等多个方面发挥至关重要的作用^[2]。在草地生态系统中,绝大多数植物能够与AMF形成共生关系^[3],AMF对维持草地植物群落的多样性和促进群落演替具有重要意义^[4]。然而,不同AMF群落与宿主植物种间的匹配度存在差异,这导致不同宿主植物与AMF群落组合后菌根功能发生显著变化。特定的环境变化,如土壤养分水平、水分状况等因子发生波动时,可能会诱导菌根功能由互惠共生关系转变为寄生关系^[5]。然而,当前关于不同宿主植物接种不同AMF群落后的功能响应还缺乏系统性研究。

紫花苜蓿(*Medicago sativa*)是国际公认的优质豆科牧草,距今已有2000多年的栽培历史,在全球范围广泛种植^[6]。因其对全球粮食安全和可持续农

业发展具有重要贡献,一直是科学研究的热点领域^[7-8]。紫花苜蓿具有高粗蛋白含量、低纤维含量、平衡的营养成分以及良好的饲料转化效率等优点,被誉为“牧草之王”。它富含异黄酮和植物雌激素,对雌性牲畜的乳汁分泌和繁殖性能具有显著的促进作用^[9]。多项研究表明,AMF能够促进紫花苜蓿的生长发育,增强植物的抗逆性,并提高牧草产量。AMF能够调控紫花苜蓿对磷元素的吸收和运输。Nazeri等^[10]发现,在土壤中磷匮乏时,AMF能够促进植物对磷元素的吸收和富集,并在磷过量时抑制植物对磷元素的吸收和运输,保护植物免受磷毒害。Xia等^[11]的研究表明,在施磷条件下,接种AMF能显著提高苜蓿的干物质产量,并通过提高植物光合色素含量及叶片光能和水利用效率,增强光合作用。林子然等^[12]研究发现,接种摩西球囊霉(*Glomus mosseae*)不仅显著改善了紫花苜蓿的生长状况,还增强了抗旱能力。上述研究表明,AMF在提高紫花苜蓿产量和抗逆性方面具有重要作用。特别是干旱条件下,AMF能够显著降低紫花苜蓿脯氨酸含量,缓解干旱胁迫对植物的生理伤害^[13]。AMF通过其菌丝网络和分泌物促进土壤团聚体的形成与稳定,同时提高土壤有机质含量,增强土壤肥力和保水能力,对农业可持续

发展具有重要意义^[14]。此外, AMF 在植物病原菌防治、土壤结构改良和根际微生物群落调节等方面展现出巨大应用潜力, 对提高紫花苜蓿的生产效率具有重要价值^[15]。

然而, 以上这些研究大多集中于单一或少数几种简单的 AMF 菌种配置, 难以全面模拟自然环境中 AMF 群落的复杂性和多样性。在自然生态系统中, AMF 群落通常表现出较高的物种多样性, 且不同环境条件下的群落结构存在较大差异^[16]。有研究表明, AMF 群落多样性越高, 对植物养分吸收和生产力的促进作用更强^[17], 这种多样性有助于植物更加全面地获取所需资源, 并增强其对环境胁迫的适应能力^[18]。因此, 量化自然状态下 AMF 群落对紫花苜蓿生长的促进作用, 对于深入探究 AMF 群落特征与宿主植物生长响应之间的关系至关重要。此外, 这些研究结果为未来应用菌根技术实现牧草增产提供理论依据和数据支持。

本研究以内蒙古温带草甸草原和典型草原中与优势物种共生的 AMF 群落为研究对象, 通过室内接种试验, 旨在探究这两种草地类型 AMF 群落对紫花苜蓿幼苗生长发育及养分吸收的影响。评估天然草原 AMF 群落与紫花苜蓿幼苗的互惠共生效应, 为筛选乡土优质 AMF 菌种提供理论依据。此外, 本研究还旨在发掘和利用草地微生物资源, 推动草地生态系统的健康与可持续发展。

1 研究区概况与研究方法

1.1 野外样品采集

本研究野外采样点位于内蒙古呼伦贝尔草原定位观测站附近的草甸草原(49°36'N, 119°58'E, 海拔 644 m)和锡林郭勒地区毛登试验站的典型草原(43°28'N, 116°26'E, 海拔 1 377 m)。研究团队于 2022 年 08 月 20—25 日期间, 分别选择当地优势物种贝加尔针茅(*Stipa baicalensis*)和大针茅(*Stipa grandis*)作为目标植物进行取样。在每个采样点分别设置 5 个 50 cm × 50 cm 的植物群落调查样方, 在每个调查样方内随机选择 3 至 4 株成龄的贝加尔针茅或大针茅进行土壤取样。在每株植物茎基部周围 10 cm 范围内, 使用直径 5 cm、深度 20 cm 的定制土钻采集根土混合物。采集后的土壤样品去除较大的石块后装入已标记的自封袋中, 采用低温冷藏方式运输至实验室。

在室内, 将采集的土壤样品分为 3 份: 一份存放于 4 °C 的冰箱冷藏保存, 用作 AMF 群落接种剂; 一份存放于 -20 °C 的冰箱中保存, 用于土壤 AMF 基因组 DNA 提取, 进行菌根真菌群落特征测定; 剩余部

分则在常温下风干保存, 用作室内盆栽试验的基质土。选取紫花苜蓿作为供试植物, 品种为北林 201 与中苜 1 号, 均来源于北京林业大学草地资源与生态研究中心。

接种剂制备。(1)含 AMF 群落接种剂: 选用根土混合物(包括宿主根系、菌根真菌孢子和根外菌丝), 每袋 50 g; (2)不含 AMF 真菌的群落接种剂作为对照: 将 50 g 土壤样品用 38 μm 孔径的滤网经无菌水过滤, 去除土壤滤液中的菌丝、孢子等, 配置成 60 mL 的土壤滤液^[19]。

1.2 试验设计

本试验共设置 8 个处理, 包括 4 个接种处理和 2 个紫花苜蓿品种。接种剂分别为取自贝加尔针茅草甸草原的根土混合物(AMF1)和大针茅典型草原的根土混合物(AMF2), 同时分别设置等量的不含 AMF 群落的土壤滤液作为对照(CK1 和 CK2)。将北林 201 和中苜 1 号分别接种 AMF1、CK1、AMF2 和 CK2。每组处理 5 个重复, 总计 40 盆。

本试验采用土培盆栽方法。将野外 2 个样点采集的土壤混合均匀, 之后与河沙以 1:1 的比例混合, 经⁶⁰Co 伽马射线灭菌后作为基质土, 分装于花盆中(直径 15 cm, 高度 15 cm), 每盆装约 1 kg 基质土。在花盆中间部位, 接种组填充 50 g AMF 接种剂和 60 mL 无菌水, 对照组处理添加 60 mL 不含 AMF 的土壤滤液和 50 g 灭菌基质土以平衡土壤养分的差异。挑选颗粒饱满、颜色鲜亮、大小一致的紫花苜蓿种子, 使用 75% 酒精进行表面消毒, 均匀播撒约 30 粒于花盆中, 然后覆盖约 0.5 cm 厚的表层土。待种子萌发 3 周后, 每盆保留长势基本一致的幼苗 10 株。在植物生长过程中, 每 3 d 浇一次水, 每周随机调整一次花盆位置以减少空间异性的影响。温室培养 2.5 个月后收获植物。

1.3 植物生长和养分指标测定

植物收获后, 地上部分经 105 °C 烘箱杀青 1 h, 然后 65 °C 烘干 72 h 至恒质量, 并测量质量。将烘干样品放入 5 mL 离心管, 随后使用组织研磨仪粉碎样品, 分别采用凯氏定氮法和钼锑抗比色法测定氮、磷元素含量^[20]。

1.4 AMF 侵染率测定

AMF 侵染率采用台盼蓝染色法进行测定^[21]。随机选取紫花苜蓿新鲜根系, 洗净, 放入 10% 的 KOH 溶液中 90 °C 水浴加热 10 min, 再用蒸馏水反复冲洗根系。随后将根系置于 2% 的 HCl 溶液中, 常温浸泡 10 min, 弃掉废液, 继续用蒸馏水冲洗根系。用 0.05% 台盼蓝染色液在 90 °C 水浴锅中加热染色 20 min, 蒸馏水冲洗干净后, 将根系置于蒸馏水中常

温脱色 10 h。脱色完成后,随机选取染色后的根系,分别剪成约 1 cm 的根段,随机挑选 20 个根段利用 200 倍显微镜进行观察,采用交叉交叉法对每个根段进行侵染率测定。

1.5 AMF 群落组成与结构测定

采用高通量测序测定 AMF 群落组成。野外土壤采用 MoBio Power Soil®DNA Isolation 试剂盒进行 DNA 提取,紫花苜蓿根系采用植物基因组提取试剂盒(TIANGEN)进行 DNA 提取。紫花苜蓿根系基因组 DNA 采用 NanoDrop2000C 超微量分光光度计测定浓度。对提取的 DNA 稀释后,采用巢式 PCR 进行目标 DNA 片段扩增。第一轮扩增使用引物^[22]为 AML1(ATCAACTTTCGATGGTAGGATAGA)-AML2(GAACCCAAACACTTTGGTTTCC),反应体系为 25 μ L,包括引物各 1 μ L(浓度为 10 ng/ μ L),PCR Mix 12.5 μ L, ddH₂O 9.5 μ L 和 DNA 稀释液 1 μ L (10 ng/ μ L)。将第 1 轮的 PCR 产物稀释 100 倍,作为第 2 轮 PCR 的 DNA 模板。第 2 轮扩增的引物^[23]为 AMV4.5NF(AAGCTCGTAGTTGAATTTTCG)-AMDGR(CCCAATATCCCTATTAATCAT),反应体系为 50 μ L,包括引物各 2 μ L(10 ng/ μ L),PCR Mix 25 μ L, ddH₂O 19 μ L, DNA 模板 2 μ L。两轮 PCR 扩增程序均设定为:预变性 94 $^{\circ}$ C, 3 min; 30 \times (变性 94 $^{\circ}$ C, 1 min; 退火 50 $^{\circ}$ C, 1 min; 延伸 72 $^{\circ}$ C, 1 min); 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。

PCR 产物采用 1.0% 的琼脂糖凝胶进行电泳检测,并对目的条带进行切胶。使用 AP-GX-50 胶回收试剂盒, NanoDrop 2000C 超微量分光光度计检测回收后样品的质量、浓度。检测合格后使用 Illumina MiSeq 测序平台进行高通量测序。使用 QIIME2 (2022.04 版本, <https://qiime2.org>)对原始测序数据进行处理。使用 DADA2 对所有序列进行去噪和过滤,去除低质量和潜在的噪声序列,并生成扩增子序列变体(amplicon sequence variants, ASVs)。使用 SILVA 138.0 数据库(<https://www.arb-silva.de>)对 ASVs 进行注释,筛选出属于球囊菌门(Glomeromycota)真菌的序列。对于注释效果不理想的序列(例如不能鉴定到科、属水平的 ASVs),使用美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information)的 BLAST 在线工具进行补充分析,去除非 AMF 序列。对 ASVs 表中所有样品数据,以数据量最少的样品为标准,进行抽平处理。基于抽平后数据,计算 AMF 群落 α 和 β 多样性。

1.6 数据处理和统计分析

计算不同品种紫花苜蓿菌根效应,量化不同来源 AMF 群落生态功能的变化,试验中的菌根效应主

要以植物生物量和氮磷含量表征。

$$A = \ln (X_{AMF}/X_{non-AMF})$$

式中: X_{AMF} 为接种 AMF 苜蓿的平均生物量, $X_{non-AMF}$ 为不接种 AMF 苜蓿的平均生物量。 A 为菌根效应,正值表示 AMF 促进植物生长,负值表示 AMF 抑制植物生长。根据相同的公式,分别计算了植物的菌根氮吸收效应(mycorrhizal N-uptake response, MNR)和磷吸收效应(mycorrhizal P-uptake response, MPR)。

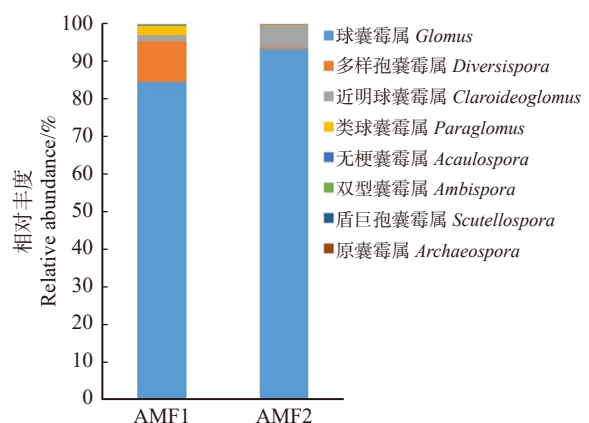
计算 AMF 的丰富度、香农威纳多样性指数和辛普森多样性指数。计算 Bray-Curtis 距离,并采用非度量多维排列(nonmetric multidimensional scaling, NMDS)描述 AMF 群落组间差异,采用置换多元方差分析(permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA)计算并比较组间群落组成的差异。利用单因素方差分析各参数之间的差异,利用 Duncan's 多重比较法检验(5% 水平)均值的显著性差异。计算菌根效应值与 AMF 群落特征的相关性矩阵和 P 值。

以上统计分析在 SPSS 20.0、SigmaPlot 15.0、RStudio (3.4.0) 软件中完成。

2 结果与分析

2.1 不同草地类型 AMF 群落组成和结构

从草甸草原和典型草原采集的土壤样品中共鉴定出 8 个属的 AMF(图 1)。其中,球囊霉属(*Glomus*) 在两种草地类型的 AMF 群落中占据绝对优势地位,其相对丰度分别高达 84.6% 和 93.3%。草甸草原的多样孢囊霉属(*Diversispora*)的相对丰度显著高于典型草原($P < 0.05$),而典型草原近明球囊霉属



AFM1. 贝加尔针茅草甸草原根土混合物; AMF2. 大针茅典型草原根土混合物。下同。AFM1, root-soil mixture of *Stipa baicalensis* meadow steppe; AMF2, root-soil mixture of *Stipa grandis* typical steppe. Same as below.

图 1 不同草地类型 AMF 属的相对丰度

Fig. 1 Relative abundance of each AMF genus in temperate meadow steppe and typical steppe

(*Claroideoglossum*)的相对丰度则显著高于草甸草原($P < 0.05$)。草甸草原 AMF 群落(AMF1)的物种丰富度显著低于典型草原 AMF 群落(AMF2), 而 AMF1 的 Pielou 均匀度指数则显著高于 AMF2($P < 0.05$)。香农威纳多样性指数和辛普森多样性指数在两个草地类型间无显著差异(表 1)。NMDS 和 PERMANOVA 分析表明, AMF1 和 AMF2 群落结构存在显著差异(stress = 0.09, $P < 0.05$)。

2.2 不同草地类型 AMF 群落与紫花苜蓿的共生关系

AMF 群落接种试验的结果表明, 来自不同草地类型 AMF 群落均能与不同紫花苜蓿品种建立良好的互惠共生关系。接种 AMF2 的总侵染率相对更高(表 2), 北林 201 和中苜 1 号紫花苜蓿接种 AMF2 群落后, 总侵染率分别高达 51.33% 和 50.44%。与 AMF2 的接种效应相比, 尽管这两个品种在接种 AMF1 群落后的总侵染率分别降低了 12.26% 和 15.32%, 但是差异不显著($P > 0.05$)。AMF2 的菌丝侵染率整体高于 AMF1 的菌丝侵染率, 但是差异不显著($P > 0.05$)。本试验中检测到的丛枝侵染量较少, 不具有统计意义。

紫花苜蓿根内 AMF 群落测序结果表明, 球囊霉属在所有接种处理的 AMF 群落中相对丰度最高, 约占 AMF 总序列数的 74.4%; 其次是近明球囊霉属, 约占总序列数的 24.6%。北林 201 接种 AMF1 后, 球囊霉属的相对丰度最低(图 2a), 而近明球囊霉属

的相对丰度最高(图 2b)。不同接种处理下, 不同品种的紫花苜蓿根内 AMF 的丰富度、香农威纳多样性指数和 Pielou 均匀度指数(α 多样性)均无显著差异($P > 0.05$, 表 2)。NMDS 和 PERMANOVA 分析表明, AMF 群落 β 多样性也均无显著差异(stress = 0.04, $P > 0.05$)。

2.3 不同草地类型 AMF 群落对紫花苜蓿菌根功能的影响

与 CK 相比, 接种 AMF 群落显著增加了紫花苜蓿的地上生物量和植物组织磷含量($P < 0.05$, 表 3), 菌根生长效应均表现为正效应($P < 0.05$, 图 3a)。但是接种不同草地类型 AMF 群落显著降低了紫花苜蓿氮含量, 进而导致植株的氮磷比显著下降(表 3)。接种 AMF1 显著增加北林 201 紫花苜蓿的生物量和磷含量, 但是对氮含量无显著影响(表 3)。

值得注意的是, 不同草地类型 AMF 群落对紫花苜蓿的菌根效应因紫花苜蓿的品种不同而存在差异。具体表现为, AMF1 和 AMF2 分别接种至北林 201 后, 其菌根生长效应和磷吸收效应明显优于中苜 1 号(图 3a、c); 无论是北林 201 还是中苜 1 号, 接种 AMF2 后显著降低了紫花苜蓿菌根氮含量, 表现为显著负效应($P < 0.05$, 图 3b)。

2.4 AMF 群落结构与菌根功能的相互关系

菌根功能与 AMF 群落特征间的相关性分析表明(图 4), 北林 201 的菌根磷吸收效应与菌丝侵染

表 1 不同草地类型 AMF 群落物种多样性

Tab. 1 Species diversity of AMF communities from different grassland types

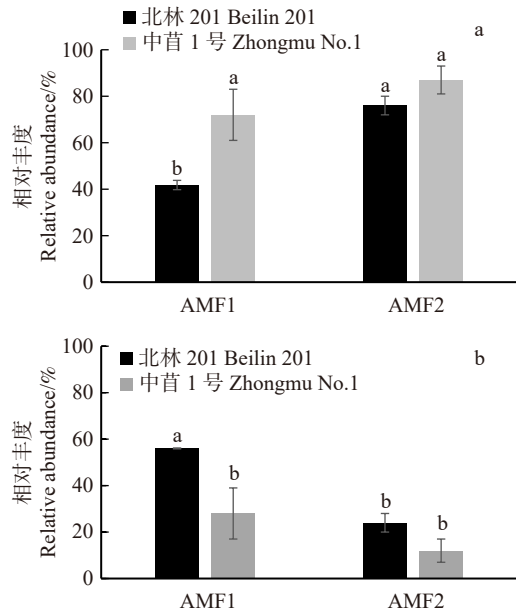
多样性指数 Diversity index	AMF1	AMF2
丰富度 Richness	143 ± 6 b	176 ± 10 a
香农威纳多样性指数 Shannon-Wiener diversity index	5.54 ± 0.09 a	5.28 ± 0.20 a
辛普森多样性指数 Simpson diversity index	5.54 ± 0.09 a	5.28 ± 0.20 a
Pielou均匀度指数 Pielou evenness index	0.77 ± 0.02 a	0.71 ± 0.02 b

注: 小写字母表示不同草地类型 AMF 物种多样性存在差异显著($P < 0.05$)。Note: lowercase letters indicate significant differences in species diversity of AMF from different grassland types ($P < 0.05$).

表 2 接种条件下 AMF 侵染率和 α 多样性指数

Tab. 2 AMF colonization rate and α diversity indexes under inoculation conditions

接种剂 Inoculant	苜蓿品种 Alfalfa variety	菌丝侵染率 Hyphal colonization rate/%	泡囊侵染率 Vesicular colonization rate/%	总侵染率 Total colonization rate/%	丰富度 Richness	香农威纳多样性指数 Shannon-Wiener diversity index	辛普森多样性指数 Simpson diversity index	Pielou均匀度指数 Pielou evenness index
AMF1	北林201 Beilin 201	28.93 ± 3.04	10.13 ± 1.56	39.07 ± 3.92	83 ± 8	4.44 ± 0.13	0.89 ± 0.03	0.70 ± 0.01
	中苜1号 Zhongmu No.1	18.00 ± 7.17	17.11 ± 6.51	35.12 ± 13.06	78 ± 12	4.40 ± 0.18	0.89 ± 0.03	0.71 ± 0.03
AMF2	北林201 Beilin 201	35.51 ± 4.56	15.82 ± 4.56	51.33 ± 7.42	92 ± 12	4.66 ± 0.27	0.9 ± 0.03	0.72 ± 0.03
	中苜1号 Zhongmu No.1	36.00 ± 7.98	14.44 ± 2.37	50.44 ± 6.64	100 ± 16	4.90 ± 0.30	0.91 ± 0.02	0.74 ± 0.02



不同小写字母表示同一 AMF 群落接种处理下, 不同品种之间的相对丰度存在显著差异 ($P < 0.05$)。Different lowercase letters indicate significant differences in relative abundance among different varieties under same AMF community inoculation treatment ($P < 0.05$).

图2 不同接种处理下球囊霉属(a)和近明球囊霉属(b)的相对丰度变化

Fig. 2 Changes in relative abundance of *Glomus* (a) and *Claroideoglomus* (b) in roots under different inoculation treatments

率、香农威纳多样性指数和辛普森多样性指数呈显著正相关关系 ($P < 0.05$)。中苜 1 号的 MPR 与香农威纳多样性指、Pielou 均匀度指数呈显著负相关 ($P < 0.05$), MNR 与 Pielou 均匀度指数呈显著负相关关系 ($P < 0.05$)。紫花苜蓿根内 MGR 与 AMF 群落特征无显著相关关系。

3 讨论

AMF 通过与陆生植物之间进行物质交换, 建立广泛的互惠共生关系, 这种共生关系在自然界中普遍存在^[24]。然而, 这种互惠共生关系受到多种因素

的综合影响, 包括植物的种类和品种、AMF 群落的组成特征、根系形态特性以及土壤微生态环境等。在本研究中, 北林 201 和中苜 1 号两个紫花苜蓿品种均能与两种草地来源的 AMF 群落建立良好的共生关系。接种 AMF2 群落后样本的总侵染率整体高于接种 AMF1, 表明 AMF2 群落可能具有更强的侵染能力或更能适应紫花苜蓿的生长条件。分子群落分析发现, 在不同的接种处理下, 紫花苜蓿根内 AMF 的丰富度、香农威纳指数和 Pielou 均匀度指数均无显著差异, 这表明紫花苜蓿根内的 AMF 群落结构在多样性上保持稳定。在所有接种处理中, 球囊霉属均作为优势菌属出现, 这与 AMF 群落接种剂中主要成分一致, 进一步验证了球囊霉属适应性强、分布广泛的特征^[25]。接种 AMF2 群落后, 紫花苜蓿球囊霉属的相对丰度显著高于接种 AMF1, 尤其是北林 201 接种 AMF2 后, 球囊霉属相对丰度显著高于接种 AMF1, 而近明球囊霉属的占比显著低于接种 AMF1。这表明 AMF 群落中优势属的相对丰度和宿主植物品种特性之间存在着相互作用, 他们在一定程度上共同塑造了 AMF 与宿主植物之间的共生关系^[26]。

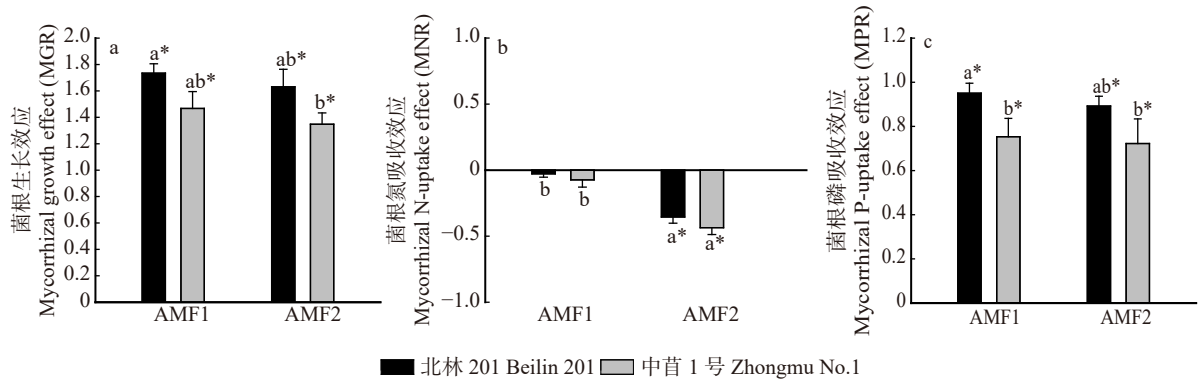
氮和磷是植物生长所必需的营养元素。AMF 与植物根系形成共生关系, 显著增强植物对氮磷等营养元素的吸收效率, 进而促进植物的生长发育, 提高植物产量^[27]。特定的 AMF 基因型通过不同的菌根功能影响宿主植物, 包括外生菌丝体的扩散、养分吸收效率的提升以及菌根特异性基因的表达调控, 并在宿主植物中引起不同的生长反应, 诸如改变宿主植物根系形态、增加生物量以及提高抗逆性等^[28]。与先前的研究结果一致^[29-30], 本研究发现不同草地类型 AMF 群落的接种均显著提升了紫花苜蓿的地上生物量和植物磷含量 ($P < 0.05$)。土壤中的磷主要以有机磷和无机磷的形态存在, 在土壤中的溶解度

表3 植物地上生物量、氮含量、磷含量和氮磷比

Tab. 3 Plant aboveground biomass, nitrogen contents, phosphorus contents and nitrogen to phosphorus ratios

接种剂 Inoculant	苜蓿品种 Alfalfa variety	生物量/(g·盆 ⁻¹) Biomass/(g·pot ⁻¹)	N含量 Nitrogen content/(mg·g ⁻¹)	P含量 Phosphorus content/(mg·g ⁻¹)	N:P
	CK	0.16 ± 0.02c	24.78 ± 0.97a	0.74 ± 0.02c	33.47 ± 2.05a
AMF1	北林201 Beilin201	0.95 ± 0.06a	24.47 ± 0.62a	2.02 ± 0.09a	12.19 ± 0.37b
	中苜1号 Zhongmu No.1	0.74 ± 0.08ab	21.57 ± 1.17b	1.50 ± 0.12ab	14.67 ± 1.33b
	北林201 Beilin201	0.77 ± 0.10ab	19.83 ± 0.91b	1.72 ± 0.07b	11.68 ± 0.94b
AMF2	中苜1号 Zhongmu No.1	0.63 ± 0.05b	16.50 ± 0.90c	1.62 ± 0.17b	10.65 ± 1.18b

注: 鉴于本研究不同CK之间的数据变异性较小, 为更直观地展示, 本表中CK为所有对照的平均值 ± 标准误。不同小写字母表示同一AMF群落接种和对照处理下, 不同品种之间的相对丰度存在显著差异 ($P < 0.05$)。Notes: due to small variation in data under different control treatments, for ease of presentation, the control values in this table are average values ± standard errors of all control treatments. Different lowercase letters indicate significant differences in relative abundance between different varieties under same AMF community inoculation and control treatment ($P < 0.05$).



表示菌根效应与零模型具有显著差异(T 检验, $P < 0.05$)。不同小写字母表示同一 AMF 群落接种处理下, 不同品种之间的菌根效应存在显著差异。 indicates significant difference between mycorrhizal effect and null model after T test ($P < 0.05$). Different lowercase letters indicate significant differences in mycorrhizal effect among different varieties under same AMF community inoculation treatment.

图 3 不同草地 AMF 群落对紫花苜蓿的菌根生长效应(a)、氮吸收效应(b)和磷吸收效应(c)
Fig. 3 Mycorrhizal growth effect (a), nitrogen uptake effect (b) and phosphorus uptake effect (c) of alfalfa seedlings under different inoculation conditions

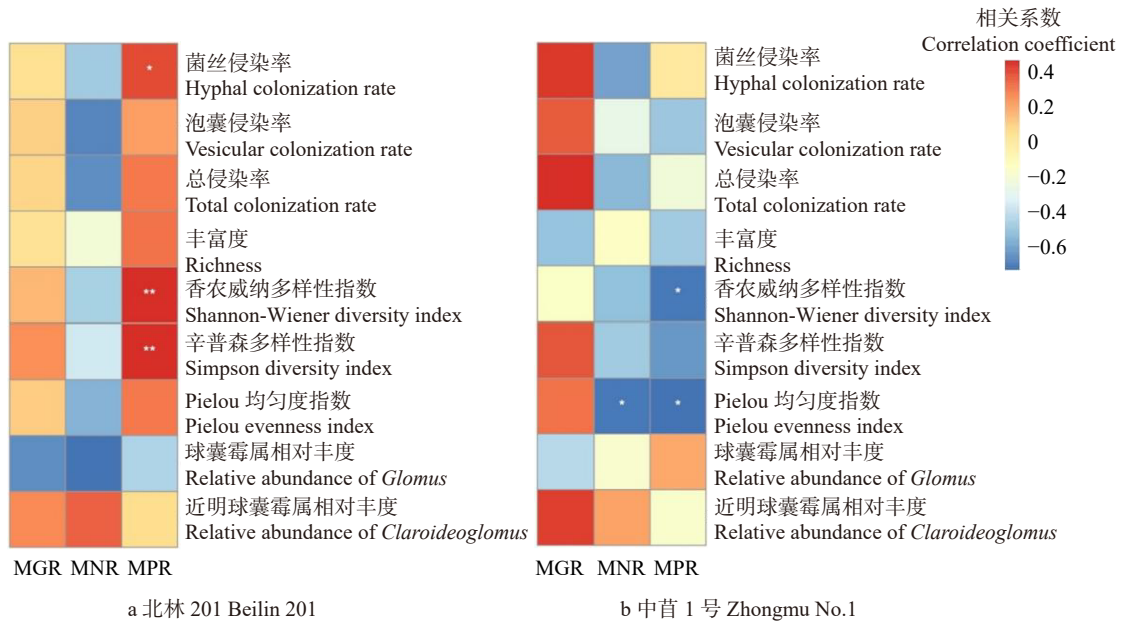


图 4 苜蓿菌根效应与 AMF 群落特征的相关性
Fig. 4 Correlations between rhizobial growth effect and AMF community characteristics

较低, 因此移动性较差。而 AMF 通过其庞大的地下菌丝网络增加了与土壤的接触面积, 提高了磷的可利用性。此外, AMF 利用细胞特异性的无机磷 Pi 转运蛋白从土壤中摄取磷元素, 并将其转化为植物可直接吸收利用的形态, 通过与植物根系的共生关系, 将摄取的磷元素转运给宿主植物, 促进植物生长和提高产量^[31-32]。

除了增强植物对磷的吸收, AMF 也在氮吸收中扮演关键角色^[33]。研究证实, AMF 通过其根外菌丝网络向宿主植物提供高达 30% 的无机氮和约 20% 的有机氮^[34-35]。在本研究中, 接种 AMF 后, 紫花苜蓿组织氮含量有所降低。可能是因为在紫花苜蓿生长初期, AMF 可能会与植物竞争有限的氮资源, 导致植物吸收的氮元素减少, 进而降低了植物组织中

的氮含量。此外, 植物体内的营养元素需要保持一定的比例和平衡, AMF 的一个主要功能是促进了植物对磷元素的吸收, 因此植物体内磷含量的增加也会在一定程度上降低氮的相对含量^[33]。该结果也进一步解释了根内侵染率与 MNR 的负相关关系(图 4)。尽管氮含量有所下降, 但接种 AMF 显著增加了紫花苜蓿地上组织的氮累积量, 表明 AMF 群落在促进紫花苜蓿氮素吸收方面同样发挥了重要作用。

AMF 群落的物种多样性和群落结构在一定程度上决定了其菌根功能的发挥。本研究发现, 接种 AMF 后, 紫花苜蓿的磷吸收效应显著提升。然而, 这种促进效果在不同品种间存在差异。北林 201 品种接种 AMF 后显示出更高的 MPR, 并且其 MPR 与根内 AMF 多样性之间存在显著正相关, 说明该品种

的根系更能有效地与多样化的 AMF 群落协同作用,提高磷吸收效率。中苜 1 号品种的 MPR 与 AMF 多样性呈显著负相关关系,这可能是由于该品种的根系与某些 AMF 菌种的共生效果不理想,或者其对磷的吸收机制与 AMF 的协同作用存在某种程度的冲突。此外,北林 201 紫花苜蓿接种 AMF 后,根内近明球囊霉属的相对丰度与 MNR 呈正相关,而球囊霉属与 MNR 呈负相关。研究表明,近明球囊霉属和球囊霉属作为 AMF 的重要属,通过改善植物养分吸收、增强抗逆性和促进根系发育等方式,对植物生长具有重要影响^[36]。这两个属的高物种多样性导致了它们在功能上的差异。例如,球囊霉属在某些情况下协助植物进行养分吸收方面的直接作用并不显著,而是通过抑制病原微生物对植物根系的侵染,间接促进植物生长^[37-38]。此外,张俊英等^[39]研究发现幼套近明球囊霉(*Claroideoglossum etunicatum*)对植物促生作用优于摩西球囊霉(*Glomus mosseae*)。这些发现表明 AMF 菌根功能主要与其群落中特定种属密切相关,而选择合适的菌根真菌种属进行接种或利用自然共生关系对提高作物产量和品质均具有重要意义。

4 结 论

本研究探讨了天然草原中 AMF 群落与紫花苜蓿幼苗之间的互惠共生机制,发现不同草地类型 AMF 群落能显著促进紫花苜蓿的生长及磷吸收,但这种效应受紫花苜蓿品种特性调控。具体来说,不同品种在菌根生长效应、磷氮吸收效率及氮磷比上表现出差异。特别是,AMF 群落组成与紫花苜蓿的磷吸收效率间存在显著的相关性,且这种关系因品种而异。本研究创新性地揭示了紫花苜蓿品种与天然 AMF 群落匹配性对于共生效果的重要性,为筛选和应用能够促进紫花苜蓿生长的乡土优质 AMF 菌种资源提供了科学依据,并强调了在实际应用中需根据紫花苜蓿品种特性定制 AMF 接种策略,以实现最大化的生产和生态效益。

参 考 文 献

- [1] Smith S E, Read D J. Mycorrhizal symbiosis[J]. Quarterly Review of Biology, 2008, 3(3): 273-281.
- [2] Shi J, Wang X, Wang E. Mycorrhizal symbiosis in plant growth and stress adaptation: from genes to ecosystems[J]. Annual Review of Plant Biology, 2023, 74: 569-607.
- [3] Wang B, Qiu Y L. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants[J]. Mycorrhiza, 2006, 16(5): 299-363.
- [4] 张静,王平,杨明新,等.植物-土壤反馈与草地群落演替:菌根真菌和土壤病原菌的调控作用[J].生态学报,2021,41(24): 9878-9885.
- Zhang J, Wang P, Yang M X, et al. Plant-soil feedbacks and succession dynamics of plant community in grassland: the roles of mycorrhizal fungi and soil pathogens[J]. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41 (24): 9878-9885.
- [5] Jiang S, Liu Y, Luo J, et al. Dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal community structure and functioning along a nitrogen enrichment gradient in an alpine meadow ecosystem[J]. New Phytologist, 2018, 220(4): 1222-1235.
- [6] 苗阳,郑钢,卢欣石.论中国古代苜蓿的栽培与利用[J].中国农学通报,2010,26(17): 403-407.
- Miao Y, Zheng G, Lu X S. Discussion on the cultivation and utilization of alfalfa in ancient China[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(17): 403-407.
- [7] Kulkarni K P, Tayade R, Asekova S, et al. Harnessing the potential of forage legumes, alfalfa, soybean, and cowpea for sustainable agriculture and global food security[J/OL]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 1314 [2024-09-28]. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01314>.
- [8] 卢欣石.中国苜蓿属植物遗传资源分类整理探究[J].中国草地学报,2009,31(5): 17-22.
- Lu X S. The exploration and classification of genetic resources of genus *Medicago* in China[J]. Chinese Journal of Grassland, 2009, 31(5): 17-22.
- [9] 卢欣石.苜蓿产业十年发展助推奶业提质升级[J].中国乳业,2019,4(28): 10-12.
- Lu X S. Alfalfa industry boosts the quality upgrade of the dairy industry over the past decade[J]. China Dairy, 2019, 4(28): 10-12.
- [10] Nazeri N K, Lambers H, Tibbett M, et al. Moderating mycorrhizas: arbuscular mycorrhizas modify rhizosphere chemistry and maintain plant phosphorus status within narrow boundaries[J/OL]. Plant Cell and Environment, 2014, 37(4): 911-921.
- [11] Xia D J, An X X, López I F, et al. Enhancing alfalfa photosynthetic performance through arbuscular mycorrhizal fungi inoculation across varied phosphorus application levels[J/OL]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1256084 [2023-11-20]. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1256084>.
- [12] 林子然,张英俊.丛枝菌根真菌和磷对干旱胁迫下紫花苜蓿幼苗生长与生理特征的影响[J].草业科学,2018,35(1): 115-122.
- Lin Z R, Zhang Y J. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus on growth and physiological properties of alfalfa seedlings under drought stress[J]. Pratacultural Science, 2018, 35(1): 115-122.
- [13] 叶佳舒,李涛,胡亚军,等.干旱条件下 AM 真菌对植物生长和土壤水稳定性团聚体的影响[J].生态学报,2013,33(4): 1080-1090.
- Ye J S, Li T, Hu Y J, et al. Influences of AM fungi on plant growth and water-stable soil aggregates under drought stresses[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(4): 1080-1090.
- [14] Rillig M C. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation[J]. Canadian Journal of Soil Science, 2004, 84(4): 355-363.
- [15] Zhao Y, Naeth M A. Soil amendment with a humic substance and arbuscular mycorrhizal fungi enhance coal mine reclamation

- [J/OL]. Science of the Total Environment, 2022, 823: 153696 [2023-09-23]. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.153696.
- [16] Alguacil M D M, Schlaeppi K, López-García Á, et al. Contrasting responses of arbuscular mycorrhizal fungal families to simulated climate warming and drying in a semiarid shrubland[J]. Microbial Ecology, 2022, 84(3): 941-944.
- [17] Powell J R, Rillig M C. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi and ecosystem function[J]. New Phytologist, 2018, 220(4): 1059-1075.
- [18] Chagnon P L, Bradley R L, Maherali H, et al. A trait-based framework to understand life history of mycorrhizal fungi[J]. Trends in Plant Science, 2013, 18(9): 484-491.
- [19] Johnson N C, Wilson G W, Bowker M A, et al. Resource limitation is a driver of local adaptation in mycorrhizal symbioses[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(5): 2093-2098.
- [20] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000. Bao S D. Soil and agricultural chemistry analysis[M]. 3rd Ed. Beijing: Soil and Agricultural Chemistry Analysis, 2000.
- [21] 王思雨, 魏涵, 陈科宇, 等. 丛枝菌根真菌 (AMF) 孢子、菌丝密度及侵染率定量测定方法 [Z/OL]. Bio-101, 2021. e2104253 [2023-02-12]. Doi: 10.21769/BioProtoc. 2104253. Wang S Y, Wei H, Chen K Y, et al. Practical methods for arbuscular mycorrhizal fungal spore density, hyphal density and colonization rate of AMF[Z/OL]. Bio-101, 2021. Bio-101 e2104253[2023-02-12]. Doi: 10.21769/BioProtoc.2104253.
- [22] Lee J, Lee S, Young J P. Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2008, 65(2): 339-349.
- [23] Sato K, Suyama Y, Saito M, et al. A new primer for discrimination of arbuscular mycorrhizal fungi with polymerase chain reaction-denature gradient gel electrophoresis[J]. Grassland Science, 2005, 51(2): 179-181.
- [24] Bonfante P, Genre A. Plants and arbuscular mycorrhizal fungi: an evolutionary-developmental perspective[J]. Trends in Plant Science, 2008, 13(9): 492-498.
- [25] Krüger M, Krüger C, Walker C, et al. Phylogenetic reference data for systematics and phylotaxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi from phylum to species level[J]. New Phytologist, 2012, 193(4): 970-984.
- [26] Burrows R L, Pflieger F L. Arbuscular mycorrhizal fungi respond to increasing plant diversity[J]. Canadian Journal of Botany, 2002, 80(2): 120-130.
- [27] 王浩, 方燕, 刘润进, 等. 丛枝菌根中养分转运、代谢、利用与调控研究的最新进展 [J]. 植物生理学报, 2018, 54(11): 1645-1658. Wang H, Fang Y, Liu R J, et al. Recent advances in the studies of nutrient transportation, metabolism, utilization and regulation in arbuscular mycorrhizas[J]. Plant Physiology Journal, 2018, 54(11): 1645-1658.
- [28] Lee E H, Eo J K, Ka K H, et al. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and their roles in ecosystems[J]. Mycobiology, 2013, 41(3): 121-125.
- [29] Liu J, Liu X, Zhang Q, et al. Response of alfalfa growth to arbuscular mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria under different phosphorus application levels [J/OL]. AMB Express, 2020, 10(1): 200 [2020-11-17]. https://doi.org/10.1186/s13568-020-01137-w.
- [30] 谭英, 尹豪. 盐胁迫下根施 AMF 和褪黑素对紫花苜蓿生长、光合特征以及抗氧化系统的影响 [J]. 草业学报, 2024, 33(6): 64-75. Tan Y, Yin H. Effects of root application of an arbuscular mycorrhizal fungus and melatonin on the growth, photosynthetic characteristics, and antioxidant system of *Medicago sativa* under salt stresses[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2024, 33(6): 64-75.
- [31] Jiang F, Zhang L, Zhou J, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance mineralisation of organic phosphorus by carrying bacteria along their extraradical hyphae[J]. New Phytologist, 2021, 230(1): 304-315.
- [32] Tian H, Drijber R A, Li X, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi differ in their ability to regulate the expression of phosphate transporters in maize (*Zea mays* L.)[J]. Mycorrhiza, 2013, 23(6): 507-514.
- [33] Hodge A, Fitter A H. Substantial nitrogen acquisition by arbuscular mycorrhizal fungi from organic material has implications for N cycling[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(31): 13754-13759.
- [34] Govindarajulu M, Pfeffer P E, Jin H, et al. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis[J]. Nature, 2005, 435: 819-823.
- [35] Bowles T M, Jackson L E, Cavagnaro T R. Mycorrhizal fungi enhance plant nutrient acquisition and modulate nitrogen loss with variable water regimes[J]. Global Change Biology, 2018, 24(1): e171-e182.
- [36] Ghasemi M, Zahedi M, Gheysari M, et al. Effects of inoculation with four mycorrhizal species on seed phenolic and fatty acids of sesame plants grown under different irrigation regimes[J/OL]. Scientific Reports, 2023, 13(1): 16482 [2023-11-10]. https://doi.org/10.1038/s41598-023-42375-9.
- [37] van der Heijden M G, Streitwolf-Engel R, Riedl R, et al. The mycorrhizal contribution to plant productivity, plant nutrition and soil structure in experimental grassland[J]. New Phytologist, 2006, 172(4): 739-752.
- [38] 王浩, 吴爱姣, 刘保兴, 等. 菌根真菌多样性与植物多样性的相互作用研究进展 [J]. 微生物学通报, 2020, 47(11): 3918-3932. Wang H, Wu A J, Liu B X, et al. Interactions between mycorrhizal fungal diversity and plant diversity: a review[J]. Microbiology China, 2020, 47(11): 3918-3932.
- [39] 张俊英, 许永利, 刘小艳. 丛枝菌根真菌对大棚番茄连作土壤的改良效果 [J]. 北方园艺, 2018, 42(3): 119-124. Zhang J Y, Xu Y L, Liu X Y. Improvement effect of arbuscular mycorrhizal fungi on continuous cropping tomato soil in greenhouse[J]. Northern Horticulture, 2018, 42(3): 119-124.

(责任编辑 李雅文 孟瑶
责任编辑 董世魁)