

# 外源几丁质肥料对玉米生长关键期的AM真菌影响规律分析

闫海洋<sup>1</sup>, 刘春光<sup>2</sup>, 朴光一<sup>3</sup>, 金海强<sup>3</sup>, 金荣德<sup>2\*</sup>, 王立春<sup>2\*</sup>

(1. 吉林农业大学资源与环境学院, 长春 130118; 2. 吉林省农业科学院农业资源与环境研究所, 长春 130033; 3. 延边朝鲜族自治州农业科学院, 吉林 延吉 133400)

**摘要:** 分别于拔节期和收获期取玉米根部及根际土壤样品, 采用湿筛-倾注-蔗糖离心法和染色镜检法, 测定了AM真菌孢子数量和侵染率; 探索分析了不同施肥条件下AM真菌在玉米生长关键时期的变化规律。试验结果表明: 拔节期化肥处理的AM真菌孢子数量多于外源几丁质肥料处理; 无论是哪种处理, 孢子的数量都从拔节期到收获期呈明显下降趋势, 而侵染率则呈上升趋势; 拔节期孢子数量大于收获期, 收获期的菌根侵染率大于拔节期; 两种肥料处理均增大孢子侵染率, 但外源几丁质肥料的增大幅度明显高于化学肥料处理, 增大13.91倍, 几丁质肥料处理孢子的减少率与菌根侵染提高率呈正相关性; 本试验条件下, 认为通过不同的施肥方式, AM真菌对玉米作物的菌根侵染、产孢数量具有一定的影响和规律性, 几丁质肥料能够创造更加适宜的菌根侵染条件, 为AM真菌规律变化的探索研究提供理论依据。

**关键词:** 肥料; AM真菌; 影响规律

中图分类号: S513.062

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2016)05-0062-05

## Effect of Exogenous Chitin Fertilizer on AM Fungi at Key Growth Period of Corn

YAN Haiyang<sup>1</sup>, LIU Chunguang<sup>2</sup>, PIAO Guangyi<sup>3</sup>, JIN Haiqiang<sup>3</sup>, JIN Rongde<sup>2\*</sup>, WANG Lichun<sup>2\*</sup>

(1. College of Resources and Environment Science, Jilin Agricultural University, ChangChun 130118; 2. Institute of Agricultural Resources and Environment Research, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033; 3. Jilin Yanbian Academy of Agricultural Sciences, Yanji 133400, China)

**Abstract:** Roots and rhizosphere soil samples were collected at jointing stage and harvest stage, and the colonization and sporulation of Arbuscular mycorrhizal (AM) fungus were determined by the way of wet sieve-sucrose centrifugation and staining microscopy. Results showed that at jointing stage sporulation in chemical fertilizer treatment was more than that of AM fungal treatment. In all treatments, the number of spores turned to decline from jointing stage to harvest, while the infection rate increased. At jointing stage, spore number was greater than at the harvest, and the infection rate was on the contrary. It was obvious that two kinds of fertilizers both increased spore infection rate, but the exogenous chitin fertilizer was obviously higher, which was 13.91 times of chemical fertilizer treatment. Spores decrement rate was positively correlated to mycorrhizal infection rate. It was suggested that the different fertilizers have a certain influence and regularity on colonization and sporulation of Arbuscular mycorrhizal fungus, especially chitin fertilizer can create a better optimum condition. The study would provide a theoretical basis for later exploration.

**Key words:** Fertilizer; Arbuscular mycorrhizal fungi; Influence and Regularity

丛枝菌根(Arbuscular mycorrhizal, AM)真菌是

一类广泛存在于土壤的功能真菌,能与绝大多数的陆生植物形成专性营养共生体系<sup>[1]</sup>。该类菌根真菌在整个生态系统和农、林、牧业等生产方面具有重要作用<sup>[2]</sup>。在显微镜下观察,除大部分孢子侵染根部,也有大量的菌丝侵染,这些菌丝不但能直接吸收土壤养分,而且能通过分泌物诱导一些伴生的微生物生活在其菌丝体周围,影响周

收稿日期: 2016-04-14

基金项目: 吉林省科技发展计划重点项目(LFGC14315)

作者简介: 闫海洋(1990-),女,在读硕士,主要从事微生物肥料方面的研究。

通讯作者: 金荣德,男,副研究员, E-mail: m18744330503@163.com

王立春,男,研究员, E-mail: wlc1960@163.com

围土壤的理化和生物学性质,从而形成菌丝际<sup>[3]</sup>,扩大宿主植物根的吸收面积,达到吸收根系无法到达区域的营养成分<sup>[4-6]</sup>,且可以提高对水分的吸收能力和改善植物生长状况<sup>[7]</sup>。据文献报道,菌根真菌群落结构的变化能改变菌根植物的生存和竞争,引起植物群落结构和多样性改变,使自然生态系统发生变化<sup>[8-9]</sup>,但是菌根真菌群落结构受诸多因素的影响,如土壤类型、土壤pH、土壤养分、土壤有机质含量以及植物种类等<sup>[10]</sup>。Jeffries等<sup>[11]</sup>认为菌根真菌与植物之间所建立的互惠共生体系的基础是碳素和矿质养分的双向交换,在自然生态系统或低投入有机农业中,AM真菌具有改善植物营养,提高植物抵御生物和非生物胁迫的作用。陈宁等<sup>[12]</sup>通过一定外源化学肥料调控寄主植物,认为AM真菌繁殖机制是可行的。另一方面,筛选出具有产生植物激素或分泌抗生素,促进植物生长的PGPR菌株,进而研制成微生物肥料,一直是微生物肥料领域的研究热题,其中有一类细菌可产生几丁质酶,将几丁质降解为几丁质寡糖,而且产生的代谢产物如吲哚乙酸(IAA)、赤霉素(GA<sub>3</sub>)等植物生长激素可直接作用于玉米<sup>[13]</sup>。近年来国内外对AM菌根菌与PGPR双接种进行了很多研究,普遍认为能带来明显的增产效果<sup>[14]</sup>。但将AM菌根菌与分解几丁质PGPR双接种的研究国内外未见报道;本试验在前人研究探索的基础上,在肥料处理上添加了外源几丁质生物肥料,旨在探索几丁质肥料是否会对菌根生长发育产生影响,初步研究外源几丁质肥料对AM真菌侵染和产孢的影响规律。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验区概况

试验地设在吉林省农安县吉林省农业科学院哈拉海农业综合试验站,年平均气温4.7℃,有效积温2 880℃·d,年降水量507.7 mm,试验地土壤为黑钙土;肥力状况为:全氮1.6 g/kg,全磷0.72 g/kg,全钾22.52 g/kg,有机质24.1 g/kg,pH值为7.56。

### 1.2 试验设计

试验于2014年5月4日播种,作物为玉米,品种为先玉335;按施肥种类不同设置2个处理,3次重复,每小区面积20 m<sup>2</sup>。处理1为常规化肥(吉林省农业科学院农业资源与环境研究所提供的15-15-15复合肥作为底肥,于拔节期追46%的尿素补给氮肥;总养分组成为:N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O 225-90-90 kg/hm<sup>2</sup>);处理2为常规化肥+几丁质肥料(几丁质

肥料作为基肥施入,以0.2%蟹壳为主,形态为液体;养分含量为:全氮为6.571 8%;全磷为1.118%;全钾为1.446 8%;总氨基酸含量为28.05 g/L;有机酸含量为13.187 mg/L;常规施肥量如处理1的化肥施用量)。分别于拔节期和收获期采集玉米根系及根系土壤,测量AM真菌孢子数量及菌根侵染率。

### 1.3 AM真菌孢子的计数、分离和鉴定

采用湿筛-倾注-蔗糖离心法。称取20 mL的待测土样,放入烧杯中加入250 mL水,搅拌,静置10 s后过双层分样筛(上筛20目,下筛400目)。反复洗土并过筛3次,收集400目筛子上的残留物于50 mL离心管中,3 000 r/min离心3 min后去掉上清液,加入50%的蔗糖溶液,搅匀后迅速放入离心机,1 500 r/min离心1.5 min,立刻过400目筛,并用清水冲洗筛子上的孢子和孢子果,用0.9%生理盐水收集于培养皿中备用,于50倍显微镜下镜检,计数,记录孢子数量和菌种特征,对照检索表,鉴定到属或种<sup>[15]</sup>。

### 1.4 菌根侵染率的测定

采用染色镜检法,将根段剪成0.5~1.0 cm的小段放入试管中,加入10%KOH,放入90℃水浴锅内20~60 min,幼嫩根系需要时间短,老硬根系则需较长时间。然后用自来水轻轻冲洗3次,再加入2%的HCl溶液浸泡5 min。去掉酸液后加入0.01%的酸性品红乳酸甘油染色液(乳酸875 mL、甘油63 mL、蒸馏水63 mL、酸性品红0.1 g),室温下过夜。第二天,加入乳酸分色后即可镜检<sup>[16]</sup>。菌根侵染率(%)=每段根浸染的比例总和/镜检总根段数。

## 2 结果与分析

### 2.1 AM真菌菌属分布情况

不同施肥处理下AM真菌菌属分布如表1所示。在2个处理中,出现了AM真菌属有球囊霉属和无梗囊霉属。在所检测到的AM菌属中,大多数属于球囊霉属;两种处理同时出现且出现概率很大的有摩西球囊霉、地表球囊霉、幼套球囊霉和根内球囊霉。

### 2.2 外源肥料对AM真菌孢子数量的影响

于玉米拔节期和收获期这两个关键时期取土样跟踪测量土壤中的AM真菌孢子数量动态,试验数据如表2。拔节期外源几丁质肥料处理明显低于化学肥料的产孢子数量,两处理间差异达到显著水平。但在收获期则表现出外源几丁质肥料处理的孢子数高于化学肥料处理的孢子数,但差异不显著,且两种处理的孢子数量均低于拔节期。

表 1 不同施肥处理下AM真菌菌属分布调查表

处理	球囊霉属							无梗囊霉属	
	摩西球囊霉	地表球囊霉	近明球囊霉	幼套球囊霉	褐色球囊霉	发草球囊霉	聚丛球囊霉	根内球囊霉	双网无梗囊霉
外源肥料	+	+	-	+	-	+	-	+	-
化学肥料	+	+	+	+	+	-	+	+	+

注：“+”表示该种被检测到，“-”表示该种未被检测到

表 2 不同处理根际土壤中的AM真菌孢子数量

处理	时期	
	拔节期	收获期
外源几丁质肥料	145 a	72 a
化学肥料	229 b	66 a

注：同列数据后不同小写字母表示不同处理间差异达5%显著水平，下同

2.3 外源肥料对玉米根部侵染率的影响

在测量孢子数的同时，也调查了两种不同处理在不同时期，AM菌对玉米根部侵染的情况，结果如表3。在外源几丁质肥料的作用下，侵染率

表 3 不同处理 AM 菌根侵染率 %

处理	时期	
	拔节期	收获期
外源几丁质肥料	1.68 a	25.02 a
化学肥料	3.92 b	24.12 a

由拔节期的 1.68% 增加到 25.02%，增幅 13.91 倍；化学肥料也由 3.92% 增加到了 24.12%，增幅为 5.14 倍。在拔节期，外源几丁质肥料处理的侵染率明显低于化学肥料处理，两处理间差异达到显著水平；但在收获期，则表现出外源几丁质肥料处理高于化学肥料处理的侵染率，但差异不显著，且两种处理的侵染率均高于拔节期。结合表 2 得出：无论外源几丁质肥料处理还是化学肥料

处理，孢子数量越多，侵染率越大，并且孢子的数量都从拔节期到收获期呈明显下降趋势，而侵染率则呈上升趋势。

2.4 AM真菌孢子减少率与菌根侵染提高率相关性分析

从图 1 中可以看出，右图孢子的减少率比左图大，而侵染增加率却远远低于左图。随着土壤中孢子减少率的增大，外源几丁质肥料处理的菌根侵染提高率也逐渐增大，呈正相关性；而化学肥料处理则表现出菌根侵染提高率逐渐降低，呈负相关性。结合表 2 表 3，说明化学肥料在玉米拔节期比几丁质肥料更能促进产孢，但在收获期大多是无效孢子，只有部分侵染到根系；而几丁质肥料则表现出虽然孢子数量相对较少，但大部分为有效孢子；在收获期，几丁质肥料更加促进了有效菌根的侵染。由此分析：拔节期是玉米整个生育时期的营养临界期，对养分需求迫切且敏感，而这个时期化学肥料处理属于相对处于营养缺乏条件下，AM真菌在营养的胁迫下，会在根际周围产生大量的新生菌根孢子；而在拔节期到收获期这一过程中，经历了营养最大效率期，此时期需要养分的绝对数量最多，吸收速率最快。因此，几丁质肥料创造了更加适宜的条件，使孢子逐渐萌发产生菌丝进而侵染根部，达到扩大根系吸收营养面积的目的，提高作物吸收养分的能力。

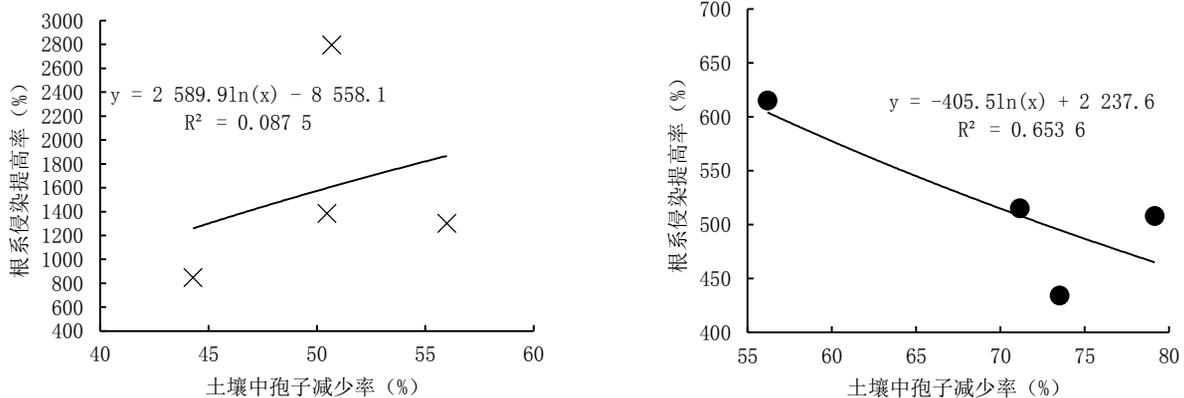


图 1 AM真菌孢子减少率与菌根侵染提高率(左为几丁质肥料处理,右为化学肥料处理)

### 3 讨 论

菌根真菌在植物体内的生长发育及其产孢过程离不开外界所提供的养分,杨中宝等<sup>[17]</sup>利用Hoagland营养液和激素在半水培条件下对AM真菌进行了产孢和侵染率的调查,认为中浓度蔗糖、脯氨酸(Pro)和吡啶乙酸处理显著提高了玉米菌根侵染率,但并未提高AM真菌产孢数量;张旭红等<sup>[15]</sup>研究不同化肥用量对丛枝菌根生态分布的影响,特别对东北地区黑土AM真菌生态分布进行研究,认为AM真菌的生态分布除了受植物群落结构的影响外,还受到诸多环境因素的影响,其中土壤肥力是一个重要的影响因子,认为磷肥处理显著降低AM真菌侵染玉米根系,而根外菌丝长度和孢子数并无显著变化。冯固等<sup>[18]</sup>总结了最近10余年间有关AM真菌与植物相互作用的研究由温室、实验室模拟转向田间原位研究,在认识上取得了很大的进展。认为培育在高肥力土壤上积极响应AM真菌的作物高产品种可能是未来提高土壤养分资源高效利用的有效途径之一。

本试验在AM真菌属种鉴定方面主要是以真菌结构和孢子形态对照参考手册为依据,并未达到分子鉴定水平,也许会造成属种分类不全面。另一方面,目前大多数对AM真菌与植物根系的相互作用过程大多通过室内接种实验来研究,而对于田间条件却缺乏深入了解,因此,目前的理论与菌根生物技术在田间应用之间尚存在一定的差距。本试验主要探索分析不同施肥条件下AM真菌在玉米不同时期的变化规律,其中结论之一为侵染率与孢子数量具有一定的正相关性,这与陈宁等<sup>[12]</sup>得到的结论一致。文献报道,磷与菌根形成的关系最为密切,实际上氮肥施用量增加也降低AM真菌的侵染率<sup>[21]</sup>,但本试验处理中添加的外源几丁质有机肥料,含有4.58%的全氮量,此处理大大增加了侵染率,这一结论与刘世通等<sup>[20]</sup>提出的施用有机肥往往促进AM真菌生长<sup>[19,21]</sup>,土壤中的AM真菌菌丝体进入有机质含量高的“斑块”中时会出现增殖<sup>[13-14,22]</sup>结论相符合,但这种现象的原理尚未调查清楚。

### 4 结 论

本试验所述孢子数量均为所有AM属种孢子量,侵染率包括孢囊侵染部分和菌丝侵染部分。综上所述数据表和数据图得出:对于玉米作物而言,不同施肥条件可以调控土壤中原有AM真菌

孢子数量和侵染率的变化,且在不同时期呈现出一定的规律性;几丁质肥料的添加,有利于创造孢子侵染根系的适宜条件,有助于提高AM真菌侵染率,提高作物对养分的吸收能力。

#### 参考文献:

- [1] 王保民,任萌圃.丛枝菌根应用研究进展[J].湖北农业科学,2004(3):55-59.
- [2] 刘润进,李晓林.丛枝菌根及其应用[M].北京:科学出版社,2000:68-71.
- [3] Andrade G, Linderman R G, Bethlenfalvay G J. Bacterial associations with the mycorrhizosphere and hyphosphere of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*[J]. Plant Soil, 1998, 202 (1):79-87.
- [4] Bernd K, Rainer G J. Evaluation of arbuscular mycorrhiza with symbiotic and nonsymbiotic peaiso lines at three sites in the Alentejo[J].Portugal Plant Nutr.Soil Sci, 2006(169): 661-669.
- [5] Aloui A, Recorbet G, Gollotte A, et al. On the mechanisms of cadmium stress alleviation in *Medicago truncatula* by arbuscular mycorrhizal symbiosis: a root proteomic study[J]. Proteomics, 2009, 9(2): 420-433.
- [6] Agustín A, Grimoldi, Monika Kavanova, et al. Phosphorus nutrition mediated effects of arbuscular mycorrhiza on leaf morphology and carbon allocation in perennial ryegrass[J].New Phytologist, 2005(5): 435-444.
- [7] Smith S E, Read D J. Mycorrhizal symbiosis[M]. London, England:Academic Press, 1997: 65-87.
- [8] Miller S L, Allen E B. Mycorrhizae nutrient translocation and interactions between plants[A]. Mycorrhizal Functioning[C]. New York:Chapman&Hall, 1992: 301-332.
- [9] Molina R, Massicotte H, Trappe JM. Specificity phenomena in mycorrhizal symbioses: Community-ecological consequences and practical implications[A]. Mycorrhizal functioning[C]. New York: Chapman&Hall, 1992, 357-432.
- [10] 马琨,陶媛,杜茜,等.不同土壤类型下AM真菌分布多样性及与土壤因子的关系[J].中国生态农业学报, 2011, 19(1): 1-7.
- [11] Jeffries P, Gianinazzi S, Perotto S, et al. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility[J]. Biol Fert Soil, 2003, 37(1):16.
- [12] 陈宁,王幼珊,李晓林,等.寄主植物栽培密度对AM真菌生长发育的影响[J].菌物系统, 2003(1): 88-94.
- [13] Leigh J, Hodge A, Fitter A H. Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material[J].New Phytol, 2009, 181(1): 199-207.
- [14] Hodge A, Campbell C D, Fitter A H. An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material[J].Nature, 2001, 413(6): 297-299.
- [15] 张旭红,朱永官,王幼珊,等.不同施肥处理对丛枝菌根真菌生态分布的影响[J].生态学报, 2006, 26(9): 3082-3086.
- [16] 刘润进,陈应龙.菌根学[M].北京:科学出版社, 2006: 386-387.

- [17] 杨中宝,王森众,刘润进.外源养分和激素对AM真菌侵染和产孢的影响[J].菌物学报,2005,24(2):277-252.
- [18] 冯 固,张福锁,李晓林,等.丛枝菌根真菌在农业生产中的作用与调控[J].土壤学报,2010,47(5):996-1002.
- [19] Miller R L, Jackson L E. Survey of vesicular arbuscular mycorrhizae in lettuce production in relation to management and soil factors[J]. Agri Sci,1998, 49(1): 130-173.
- [20] 刘世通.集约化玉米氮养管理措施对根际微生物活性的影响[D].北京:中国农业大学,2008.
- [21] Alloush G A, Zeto S K, Clark R B. Phosphorus source, organic matter, and Arbuscular mycorrhiza effects on growth and mineral acquisition of chickpea grown in acidic soil[J]. Plant Nutr, 2000, 23(9): 1351-1369.
- [22] Schreiner R P, Bethlenfalvay G J. Mycorrhizae bioacid and biocontrol. Effects of three different fungi on developmental stages of three AM fungi[J]. Biol Fertil Soils, 1997, 24(1): 18-26.

(责任编辑:王 昱)

---

### 欢迎订阅2017年《玉米科学》

《玉米科学》1992年创刊,由吉林省农业科学院主办。玉米科学是我国惟一的玉米专业学术期刊,在国内外玉米界具有较大影响。2004~2014年连续4次入选中文核心期刊。

《玉米科学》主要报道:遗传育种、品种资源、耕作栽培、生理生化、生物工程、土壤肥料、专家论坛、国内外玉米科研动态、新品种信息等方面的内容。适合科研、教学、生产及管理方面的人员参考。

《玉米科学》为双月刊,双月15日出版。大16开本,176页,每期定价15元,全年90元。国内外公开发行,邮发代号:12-137,全国各地邮局(所)均可订阅,漏订者可直接向本刊编辑部补订。

地 址:吉林省长春市生态大街1363号 邮 编:130033