

宋 微,张 虎,王 磊. 宝华玉兰菌根的显微结构观察[J]. 江苏农业科学,2014,42(9):310-312.

宝华玉兰菌根的显微结构观察

宋 微,张 虎,王 磊

(江苏农林职业技术学院,江苏句容 212400)

摘要:采用酸性品红染色法对江苏句容不同生长地的宝华玉兰(*Magnolia zenii*)根系染色压片,观察其菌根显微结构及菌根侵染情况,结果表明,宝华玉兰菌根结构复杂,根外被密集的菌丝包被形成菌丝鞘,无根毛,既具有 AM 类菌根特有的典型结构,也有穿梭于细胞间的有隔菌丝和束状菌丝结构;野生植株菌根侵染率较高,不同生长地域的菌根侵染指标差异显著,侵染率排名为自然林>纯林>混合林。

关键词:宝华玉兰菌根;显微结构;侵染率

中图分类号: S685.150.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)09-0310-02

宝华玉兰(*Magnolia zenii*)属木兰科木兰属植物,野生种仅分布于江苏镇江宝华山国家森林公园,为我国特有树种,在 1999 年《国家重点保护野生植物名录(第一批)》中被列为 II 级濒危种,在 2004 年《中国植物红色名录》中被列为极危种^[1]。宝华玉兰的树干挺拔通直,是良好的木材,其花大芳香,是珍贵的园林观赏树木,且花果可入药^[2]。徐惠强等对宝华玉兰在江苏的自然分布状况及其群落学特征进行了调查^[3];蒋国梅等利用 Hegyi 单木竞争指数模型对江苏镇江宝华山国家森林公园宝华玉兰种内、种间竞争强度进行定量分析,发现宝华玉兰竞争压力主要来自种间^[4]。

菌根是土壤中的菌根真菌菌丝与植物营养根系形成的一种联合体,是自然界中一种普遍的植物共生现象。菌根不仅参与宿主植物的各种生理活动和生化过程,而且还通过外延菌丝在土壤中生长蔓延,改善土壤理化性质,增强土壤的透气性,促进植物生长^[5-7]。迄今为止,对宝华玉兰的研究仅见于对其花粉形态、自然分布状况和群落学的简要描述^[3-4,8-9],而关于其根际微生物当前无人研究。目前,国内外就菌根植物共生体对土壤、环境及生态有益作用的研究力度日趋增大,研究宝华玉兰是否存在菌根、菌根存在的结构、侵染模式等,可以为菌根真菌对宝华玉兰的生长发育、种源保护研究提供理论依据,并以期解决宝华玉兰自然繁衍能力退化的问题。

1 材料与与方法

1.1 宝华玉兰根的采集

采样地位于江苏省句容市,属北亚热带季风气候,四季分明,气候温和,雨水充沛,日照充足;全年平均气温为 15.1℃,年平均相对湿度为 78%,年平均降水量为 1 018.6 mm,年平均风速为 3.2 m/s,无霜期为 229 d,年日照为 2 116 h。宝华山地带植被保存完好,现仅存野生宝华玉兰成株 28 棵。笔者分别在宝华山(自然林)、句容陈武园区(人工纯林)、江苏农林职

业技术学院树木园(人工混交林)分别取根样进行研究。根样收集时避免破坏主根,选取须根,每处采样点选取样本数为 10 株,将根样与其周围土壤一同装入无菌袋中,带回实验室,将根样清洗,放入 FAA 固定液中固定,4℃冰箱中保存备用。

1.2 宝华玉兰菌根结构观察

采用透明压片染色镜检法对样根进行观察,以确定其是否存在菌根结构。将采样根系用自来水洗净,剪成 1.0 cm 长的小段,置于 10 mL 试管中,加入 10% KOH 置于 90℃水浴锅中加热 20 min;取出样品,用无菌水冲洗去碱液,样根放入 2% HCl 中酸化 5 min,洗净,用 0.01% 的酸性品红溶液对根进行染色;取 100 根根段置于载玻片上,盖片镜检,并拍照记录,计算菌根侵染率:侵染率 $F = \frac{\text{受侵染的根段数}}{\text{观察的根总段数}} \times 100\%$ ^[10]。

1.3 数据处理

试验数据采用 SPSS 11.0 软件统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同林分宝华玉兰菌根侵染率比较

从图 1 可以看出,镇江句容宝华山(自然林)宝华玉兰根际共生真菌侵染率最高,为 90%,样根多数可见成片的真菌侵染;其次为陈武园区人工纯林,侵染率为 52.5%,与宝华山的菌根显微图相比,样根可见真菌少于自然林;侵染率最低的为江苏农林职业技术学院树木园中的人工混交林,侵染率为 25%,依旧存有共生的菌根真菌。由此推测,在自然生长情况下宝华玉兰长势良好,这与菌根侵染率高有一定关系,同时,也说明宝华玉兰根际普遍存在菌根的共生结构。

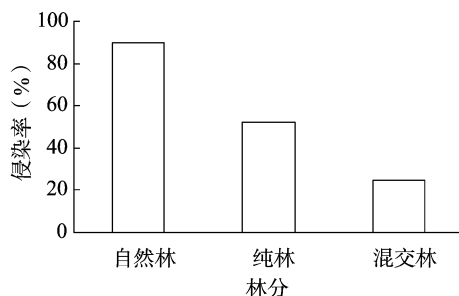


图1 不同林分宝华玉兰的菌根侵染率

收稿日期:2013-12-18

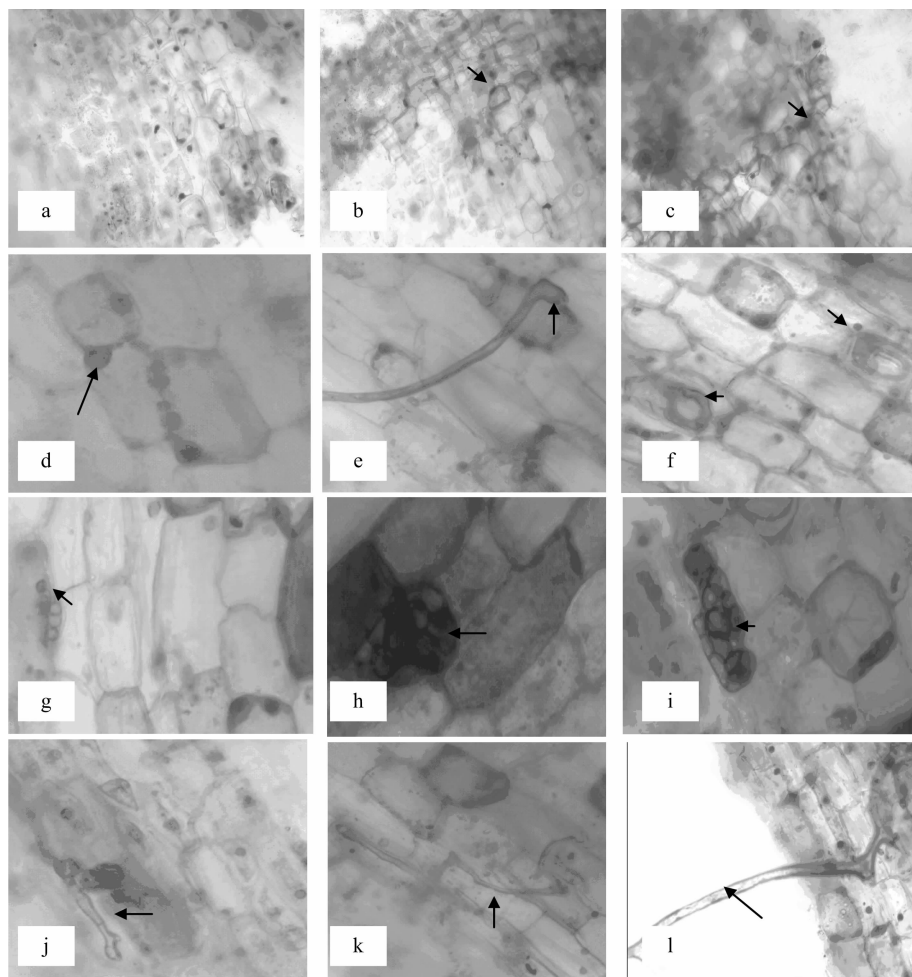
基金项目:江苏省自然科学基金(编号:BK2011498、BK2010345);江苏农林职业技术学院课题。

作者简介:宋 微(1978—),女,博士,副教授,主要从事微生物学和植物病理学研究。E-mail:13360790@qq.com。

2.2 宝华玉兰 VA 菌根形态结构

以 0.01% 酸性品红染色液可将根系中菌根真菌菌丝、丛枝、泡囊等染成红色,没有被侵染的细胞则不会被染色,中柱一般不着色。从图 2 可以看出,宝华玉兰具有典型丛枝菌根结构,既有胞间、胞内菌丝,也有菌丝进入细胞形成的丛枝和泡囊结构及典型的孢子果;被真菌侵染的菌根细胞无增大现象,根表肉眼观察无明显变化,本身结构并未改变;菌根表皮细胞及皮层细胞内可见不同颜色深浅的菌丝,可见特殊结构的菌丝结(又称菌丝团或菌丝卷,图 2-b、c、f),菌丝结大多

在皮层细胞中央分布,有些几乎充满整个细胞(图 2-a、b、c),有些菌根的菌丝结只单独在 1 个细胞内分布,有的真菌菌丝体会穿过细胞进入另 1 个细胞内;菌丝复合体形态为菌丝群随意聚集、打结、延伸、反曲(图 2-j、k、l);个别根的内观察到泡囊结构(图 2-d),存在穿梭于细胞间的有隔菌丝(图 2-j,箭头示隔)和束状菌丝(图 2-j)。另外,在同一个菌根上观察到分布于细胞内、细胞间和细胞外的菌丝结构(图 2-l)。



a、b、c—根被细胞中菌丝和菌丝结(100×); d—VA菌根菌内单生孢子(400×); e—菌丝延伸形成附着胞(400×); f—VA菌根菌内螺旋状菌丝圈(400×); g—VA菌根内泡囊(400×); h、i—VA菌根孢子果(400×); j、k—细胞内菌丝(400×); l—VA菌根外延菌丝(400×)

图2 宝华玉兰 VA 菌根形态结构

3 结论与讨论

通过染色观察可见,宝华玉兰根系普遍存在内生菌根结构,野生林中宝华玉兰根际侵染率最高,人工纯林次之,人工混交林较少。自宝华玉兰根系显微结构可清楚观察到泡囊、菌丝结、孢子果、根内菌丝、根外菌丝、孢子等多种复杂菌根结构,说明宝华玉兰属于典型的丛枝菌根植物。

众多研究已证明,菌根真菌的侵染受到地域环境的综合影响,菌根多样性与地上部分生物的多样性有相关性^[11]。Grime 等试验发现,由于菌丝网络作用,人工小群落中的亚优势种能够在优势种的存在下得以生存,接种后的植物群落比

不接种的对照组具有更高的植物多样性^[12]。分布于宝华山森林公园的野生宝华玉兰菌根侵染率高,侵染强度大,原因可能与地上部分植被丰富有关,通过森林菌根网络在同种或不同种植物间实现资源的重新分配和共享^[13]。

对于宝华玉兰菌根鉴定及根际土壤种群微生物的调查研究仍处于初步阶段,其有益菌的分离鉴定等工作需进一步探索研究。

参考文献:

- [1] 汪松,解炎. 中国物种红色名录[M]. 北京:高等教育出版社,2004:309-468.

李媛媛,张怡康. 徐州采煤塌陷区复垦土壤的细菌群落多样性[J]. 江苏农业科学,2014,42(9):312-315.

徐州采煤塌陷区复垦土壤的细菌群落多样性

李媛媛^{1,2}, 张怡康^{1,3}

(1. 中国矿业大学环境与测绘学院,江苏徐州 221116; 2. 中国矿业大学/江苏省资源环境信息工程重点实验室,江苏徐州 221116;

3. 江苏省徐州市铜山区国土资源局,江苏徐州 221116)

摘要:为探讨江苏省徐州市采煤塌陷区土壤微生物群落多样性及优势种群在复垦前后的变化,利用 454 焦磷酸测序法,对比分析采煤塌陷地、复垦地以及非塌陷对照地这 3 个样地的细菌多样性及群落结构。结果表明,变形菌、放线菌、浮霉菌、酸杆菌、绿弯菌、拟杆菌、厚壁菌和芽单胞菌为细菌的主要类群,但其在 3 个处理区的分布各不相同,即芽单胞菌和硝化螺旋菌在复垦区中分布最广,酸杆菌、放线菌、拟杆菌在对照区中最多,变形菌在塌陷区中分布最广。复垦地土壤的细菌群落多样性水平最高,对照地次之,塌陷地最低。细菌群落多样性指数与土壤有机质、全氮、速效钾的含量呈正相关关系,与土壤盐分呈负相关关系。开采沉陷导致土壤肥力退化和土壤盐渍化现象加重,抑制微生物的繁殖与生长。复垦与植被修复能够改善土壤理化特征,恢复微生物群落结构功能与多样性。

关键词:采煤塌陷区;复垦土壤;微生物;454 焦磷酸测序法;多样性

中图分类号: S154.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)09-0312-04

采煤会扰动人类活动等,不可避免地会改变土壤生态系统,破坏微生物群落生态功能稳定性。矿区土壤复垦及生态重建已成为全球土壤环境研究领域中的重要课题^[1]。土壤微生物群落能敏锐地反映出生态环境的功能演变以及环境胁迫等影响,是衡量矿区土壤生态功能和监测矿区环境变化的有效指示器^[2-3]。近年来,我国关于矿区生态恢复的研究取得了丰硕的成果,但主要集中于复垦土壤的物理特性、化学特征和重金属污染等方面^[4-6]。有关复垦土壤的微生物群落特征的研究较少,特别是从分子水平对矿区土壤微生物群落结构及多样性的报道较为少见。本研究采用定量 PCR 和 454

焦磷酸测序法^[7],通过比较复垦地、塌陷地及对照地的土壤细菌多样性及群落结构等特征,探讨复垦以及植被恢复对土壤微生物群落的影响。一方面为 454 焦磷酸测序技术的应用提供试验方法和经验借鉴,另一方面将认识矿区土壤微生物特性的高度提升到了分子水平,为土壤生态学研究提供了新视角,同时也为矿区生态恢复提供了信息和参考。

1 材料与方法

1.1 土壤样品采集与预处理

试验区设在江苏省徐州市柳新国家复垦示范项目区内,共包括复垦地、塌陷地和对照地 3 个不同处理的采样区,选取代表性的泥浆泵复垦地以及塌陷未复垦地作为土样采集对象,并以未受影响的正常农田为对照。复垦区的土壤经泥浆泵复垦后,进行“豆科牧草+禾本科牧草”混播配植,植被包括紫花苜蓿、三叶草以及黑麦草。复垦区与对照区具有相同

收稿日期:2014-04-09

基金项目:国家自然科学基金(编号:51174207);江苏高校优势学科建设工程项目(编号:SZBF2011-6-B35)。

作者简介:李媛媛(1985—),女,江苏徐州人,博士研究生,主要从事矿区土地复垦与土地利用研究。E-mail: cumt_lyy@126.com。

[2]刘玉壶,罗献瑞,吴容芬,等. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1996:133.

[3]徐惠强,郝日明,姚志刚,等. 珍稀树种小叶银缕梅和宝华玉兰自然现状及其就地保护研究[J]. 江苏林业科技,2001,28(5):19-21.

[4]蒋国梅,孙国,张光富,等. 濒危植物宝华玉兰种内与种间竞争[J]. 生态学杂志,2010,29(2):201-206.

[5]Aloui A,Recorbet G,Robert F,et al. Arbuscular mycorrhizal symbiosis elicits shoot proteome changes that are modified during cadmium stress alleviation in *Medicago truncatula* [J]. BMC Plant Biology, 2011,11(1):75-81.

[6]Bedini S,Turrine A,Rigo C,et al. Molecular characterization and glomalin production of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing a heavy metal polluted ash disposal island, downtown Venice[J]. Soil Biology and Biochemistry,2010,42(5):758-765.

[7]宋微,吴小芹,叶建仁. 6 种外生菌根真菌对 895 杨矿质营养吸收的影响[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2011,35(2):

35-38.

[8]林新春,俞志雄. 9 种木兰科植物的花粉形态观察[J]. 浙江林学院学报,2003,20(4):353-356.

[9]王剑伟,张光富,陈会艳. 特有珍稀植物宝华玉兰种群分布格局和群落特征[J]. 广西植物,2008,26(4):489-494.

[10]Komanik P P,Bryon W C,Schultz R C. Procedures and equipment for staining large numbers of plant root samples for endomycorrhizal assay[J]. Canadian Journal of Microbiology,1980,26(4):536-538.

[11]Peterson T A,Mueller W C,Englander L. Anatomy and ultrastructure of a rhododendron root-fungus association[J]. Canadian Journal of Botany,1980,58(23):2421-2433.

[12]Grime J P,Mackey J M L,Hillier S H,et al. Floristic diversity in a model system using experimental microcosms[J]. Nature,1987,328:420-422.

[13]梁宇,郭良栋,马克平. 菌根真菌在生态系统中的作用[J]. 植物生态学报,2002,26(6):739-745.