

李宝库,贺学礼,吴伟家. 不同海拔蒙古沙冬青根系深色有隔内生真菌(DSE)定殖的空间变化[J]. 江苏农业科学,2016,44(5):502-505.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.05.143

不同海拔蒙古沙冬青根系 深色有隔内生真菌(DSE)定殖的空间变化

李宝库^{1,2}, 贺学礼¹, 吴伟家²

(1. 河北大学生命科学学院,河北保定 071002; 2. 河北大学药学院,河北保定 071002)

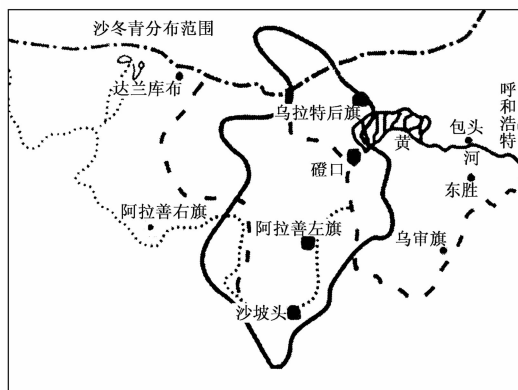
摘要:为阐明荒漠植物蒙古沙冬青(*Ammopiptanthus mongolicus*)根围深色有隔内生真菌定殖的形态特征随海拔变化,2013年6月,选取内蒙古乌拉特后旗、磴口、阿拉善左旗、宁夏中卫市沙坡头等西北荒漠地区4个不同海拔梯度样地,分别从0~10、10~20、20~30、30~40、40~50 cm 5个土层采集蒙古沙冬青根和土壤样品,系统研究了不同海拔深色有隔内生真菌定殖空间变化规律。结果发现,深色有隔内生真菌菌丝和微菌核在所选样地沙冬青根系组织普遍定殖,产生多种典型的结构;并随海拔从低到高,定殖形态出现规律性变化,即菌丝变粗,颜色逐渐变深,横隔膜缩短。微菌核由分散颗粒状聚集成簇、成团,并出现迷宫状,颜色也显现不同变化规律,且菌丝定殖率、微菌核和总定殖率逐渐增大。

关键词:DSE 真菌;定殖率;蒙古沙冬青;海拔梯度;空间变化

中图分类号:X171.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)05-0502-04

深色有隔内生真菌(dark septate endophytes,DSE)是泛指定殖于植物根细胞或间隙的小型真菌,菌丝颜色深,具有明显横隔膜,广泛存在于植物根表皮、皮层和维管束组织的细胞内或间隙,能够在植物细胞形成微菌核,但不会在根组织内形成病原菌所引起的病理学特征^[1-2]。这类真菌在干旱、高温、寒冷等极端生态环境中常常在植物根组织内形成较高定殖率^[3]。DSE 广泛的生态分布和类似菌根的潜在生态功能,特别是在不利于菌根发育环境中的积极作用,在生态保护和修复、植被恢复、重建以及生物防治等多个方面具有潜在的应用价值^[4]。蒙古沙冬青(*Ammopiptanthus mongolicus*)为亚洲中部荒漠特有种,分布范围介于105°~108°E,37°~41°N之间,生长在海拔1 000~1 600 m的低山带,属国家3级濒危保护植物^[5-6],具抗旱、抗寒、抗热、耐碱、耐沙埋、抗风蚀等特性,且地上部分枝叶多,冠幅大,阻沙能力强,是荒漠地区防风固沙的优良灌木^[7]。近年来,不少学者对蒙古沙冬青根围DSE定殖进行了研究,但关于DSE真菌定殖随海拔空间变化的研究较少,特别是有关我国西北荒漠地区不同海拔高度DSE变

化特征的研究还未见报道。因此,根据综合分布区生态条件,于2013年选定内蒙古乌拉特后旗、磴口、阿拉善左旗及宁夏中卫市沙坡头等(图1、表1)4个不同海拔高度的蒙古沙冬青生长地进行其根围DSE定殖空间变化多样性的研究,以期为西北荒漠-森林生态系统养分循环调控、退化生态系统的恢复和重建提供理论依据。



标记处为本研究选定样区

图1 沙冬青分布范围

收稿日期:2015-09-18

基金项目:国家自然科学基金(编号:31170488)。

作者简介:李宝库(1966—),男,河北望都人,博士,副教授,主要从事菌根生物学及微生物药物研究。E-mail:libaoku@hbu.cn。

通信作者:贺学礼,教授,博士生导师,主要从事药用植物资源利用和生态学研究。E-mail:xuelh1256@aliyun.com。

1 材料与方法

1.1 样品采集

2013年6月,在4个样地(表1)随机选取6株生长良好

[12]李 璞,王慎敏,周寅康. 基于层次分析法的土地开发项目区未利用地地力评价研究——以克拉玛依市2000 hm²土地开发项目为例[J]. 安徽农业科学,2008(2):754-756.

[13]鲁明星,贺立源,吴礼树,等. 基于GIS的华中丘陵区耕地地力评价研究[J]. 农业工程学报,2006(8):96-101.

[14]李春燕. 国土开发适宜性评价指标体系研究——以中原城市群

为例[D]. 北京:中国地质大学,2013.

[15]张 卿. 土默特右旗未利用地开发潜力评价研究[D]. 呼和浩特:内蒙古师范大学,2014.

[16]王慎敏,赏 刚,陈昌春,等. 土地开发项目区未利用地地力评价研究——以安徽寿县孟家湖林场苇地开发项目为例[J]. 中国农学通报,2009(3):240-244.

的沙冬青,贴近植株根颈部 0~35 cm 去其枯枝落叶挖土壤剖面,取 0~10、10~20、20~30、30~40、40~50 cm 共 5 个土层的根围土壤和根样约 1 000 g,每个样品重复 5 次,记录采样地点、时间和环境等并编号,将样品装入隔热性能好的塑料袋密封带回实验室后 4℃ 冷藏,过 1~2 mm 筛,用于土壤理化成分测定,根样用于 DSE 定殖结构与侵染状况观测。

1.2 测定内容与方法

DSE 定殖结构(菌丝、微菌核)和定殖率按 Phillips 等的方法^[8]染色、Giovannetti 等的方法^[9]测定。土壤 pH 值用电位法测定,有机 P 用碳酸氢钠-钼锑抗比色法测定,有机 N 用碱解扩散法测定,有机 C 用重铬酸钾氧化法测定^[10]。

1.3 数据统计与分析

采用 SPSS 19.0 生物统计软件对试验数据进行方差、相关性分析。

表 1 4 个采样点的生态环境

采样点	经纬度	海拔 (m)	年均降 水量(mm)	平均气温 (℃)	土壤类型	植被类型	含水量 (%)	pH 值	有机碳含 量(mg/g)	有机氮含 量(mg/g)	有机磷含 量(mg/g)
磴口	40°13'N,107°05'E	1 043	149	7.6	粉沙黏土、 风沙土	荒漠植被	2.97b	7.44a	0.78b	23.67b	2.05a
沙坡头	37°26'N,104°59'E	1 286	188	9.6	沙丘土	自然沙尘 植被	7.05a	7.38a	1.50a	18.87c	1.75ab
乌拉特后旗	41°41'N,106°59'E	1 422	141	3.9	灰棕漠土、 风沙土	荒漠草原 和荒漠 灌丛	3.88b	7.27b	1.08ab	21.08b	1.84a
阿拉善左旗	38°54'N,105°45'E	1 561	150	8.3	灰棕荒 漠土	旱生、超 旱生和小 灌木	4.05b	7.22b	1.54a	35.06a	1.35b

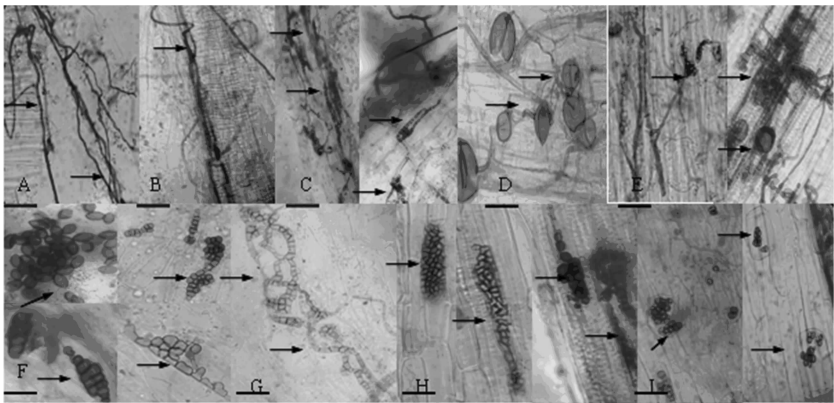
注:同列数据后不同小写字母表示样地间差异显著($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 沙冬青根围 DSE 的形态特征

碱解离酸性品红染色法证实 DSE 菌丝在所选样地沙冬青根系组织胞间或胞内普遍定殖,根系中存在多种真菌侵染结构特征(图 2-A、图 2-H),并存在一些菌丝特化结构,如沿植物根细胞内壁盘曲的菌丝圈和链珠状的细胞串(图 2-

B、图 2-C)、透明的微菌核圈结构(图 2-G),颗粒状、纺锤体状、叶状、印度梨形孢和脑状等微菌核(图 2-F),有些菌丝顶端细胞往往膨大、突起,形成不规则的类似附着孢的结构(图 2D),并观察到“微菌核”的形成过程,主要由一些深色菌丝聚集而成(图 2-E);此外,还能观察到类似厚垣孢子的聚集(图 2-E)及微菌核与 AM 真菌泡囊共生结构(图 2-I)。



A—DSE菌丝在根部细胞中的分布;B—深色菌丝在局部根系皮层细胞中侵染强度较高,菌丝沿着根系纵轴方向近平行分布及沿根部延伸的大量菌丝形成的菌丝网;C—菌丝变形及特化结构,包括链珠状的细胞串;D—根系皮层细胞中分布的类似附着孢的结构;E—微菌核的形成过程和发育及类似厚垣孢子结构在表皮细胞中的分布;F—形状及颜色深浅不一的微菌核;G—浅色及透明的带状微菌核及微菌核圈;H—深浅不一的微菌核结构充满整个或部分组织细胞及在根系皮层细胞中;I—微菌核和AM真菌的泡囊共生结构。比例尺:10 μm

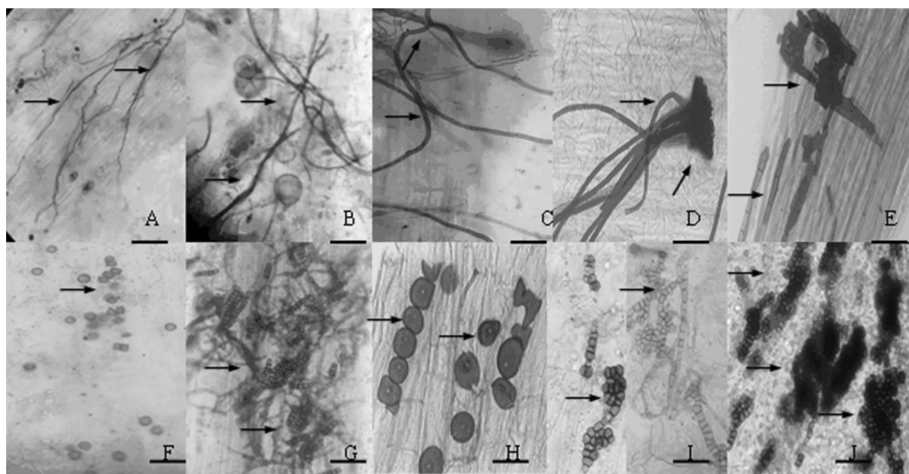
图2 蒙古沙冬青根围 DSE 形态特征

2.2 不同海拔蒙古沙冬青根围 DSE 形态变化特征

随着生态环境的变化,尤其是随海拔升高(表 1),不同样地菌丝渐渐变粗,颜色逐渐黑化,并出现附着胞样膨大细胞,暗色菌丝片段聚集,横隔膜也变短(图 3-A 至图 3-E)。微菌核形态变化更加多样,由分散颗粒状逐渐聚集成簇、成团,并出现迷宫状,颜色也显现不同变化(图 3-F 至图 3-J)。

2.3 DSE 真菌定殖沿海拔梯度的空间分布

同一海拔样地,菌丝定殖率和总定殖率在土层间无规律性变化。其中沙坡头和磴口 40~50 cm 土层显著高于其他土层;阿拉善左旗 0~10 cm 土层显著高于其他土层;乌拉特后旗 0~20 cm 土层达最大值。微菌核定殖率沙坡头 0~10、40~50 cm 土层极显著高于其他土层;阿拉善左旗和乌拉特



A~B—磴口的DSE细菌丝；C—沙坡头的DSE菌丝渐粗；D—乌拉特后旗DSE菌丝深色变粗聚集；E—阿拉善左旗的深色短隔DSE菌丝；F—磴口的分散颗粒状微菌核 G~H—沙坡头深色及无规则聚集的微菌核 I：乌拉特后旗带状、纺锤体状及浅色圈状微菌核；J—阿拉善左旗高度聚集团状的微菌核。比例尺：10 μ m

图3 不同海拔蒙古沙冬青根围 DSE 形态变化特征

后旗 0~10 cm 土层极显著高于其他土层；磴口 10~20、30~40 cm 土层极显著高于其他土层（图 4）。随着海拔由高到低，菌丝定殖率、微菌核定殖率和总定殖率逐渐减小。阿拉善左旗显著高于乌拉特后旗；乌拉特后旗显著高于沙坡头；沙坡头显著高于磴口。

2.4 DSE 定殖及生态环境因子间相关性分析

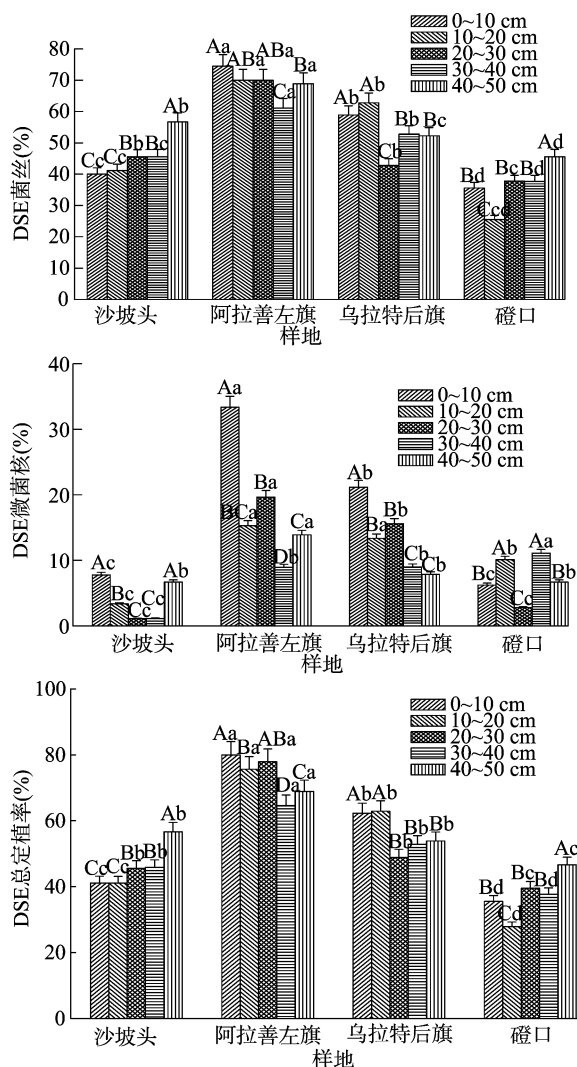
DSE 菌丝定殖率与有机 C 含量、有机 N 含量和含水量极显著正相关，微菌核定殖率与有机 C 含量和有机 N 含量显著正相关，与有机 P 含量显著负相关，总定殖率与各因子间相关性不强（表 2）。

3 讨论与结论

3.1 蒙古沙冬青根围 DSE 真菌定殖形态随海拔梯度的变化

本研究表明，DSE 侵染蒙古沙冬青根系能产生多个典型结构。已有的研究认为，DSE 具有广泛的宿主和生态分布，且在植物根上定居后并无稳定的病理学特征^[11-12]。通常情况下植物形成菌根后可提高宿主的抗逆性，而 DSE 在胁迫环境中的普遍存在及其对环境的适应，得到了许多研究结果的支持^[13-14]。沙冬青属于直根系，须根极少。DSE 在沙冬青根内分布广泛，AM 和 DSE 共生体的形成可能是沙冬青适应极端荒漠环境的有效途径。尽管目前研究尚不能对 DSE 菌丝及微菌核多态性在其整个生命周期中的意义做出解释，但在某种程度上其可能与增强 DSE 在极端环境中抗逆性有关，并且暗示了其与蒙古沙冬青间复杂的相互作用。

本研究发现，随样地生态条件尤其是海拔的变化，DSE 定殖形态出现一定规律性。已有研究表明，黑色素在 DSE 菌丝细胞壁内的聚积是一个逐渐的过程，且可能是菌丝在逆境中的自我保护，因为黑色素能捕获和消除非生物胁迫引起的氧自由基，增强菌丝细胞壁的强度和对胁迫环境的耐受^[15-16]。这样，在高海拔的乌拉特后旗和阿拉善左旗，菌丝的黑化极有可能基于黑色素对菌丝的保护作用，且有随环境压力增大，干旱程度加剧加深的可能，因为随着植物的生理活性的降低，根内 DSE 主要以深色菌丝呈现。横隔变短，进一



不同大写字母表示同一海拔不同土层间差异极显著 ($P < 0.01$), 不同小写字母表示同一土层不同海拔之间差异显著 ($P < 0.05$)

图4 不同海拔蒙古沙冬青根围 DSE 定殖空间变化

表 2 沙冬青根围 DSE 与生态因子相关分析

项目	有机 C	有机 P	有机 N	pH	含水量
DSE 菌丝定殖率	0.682 **	0.125	0.330 **	0.014	0.430 **
微菌核定殖率	0.315 *	-0.333 *	0.302 *	-0.102	-0.121
总定殖率	-0.107	-0.155	0.301	-0.136	-0.126

注：“*”表示两者之间在 0.05 水平上显著相关；“**”表示两者之间在 0.01 水平上极显著相关。

步说明高海拔恶劣的环境条件,养分的运输更加困难。微菌核的多样性变化也说明了微菌核成为了繁殖结构以抵抗环境的压力。这种差异的存在基于不同海拔样地生境的差异,也有可能表明 DSE 的生态适应性。相对于高海拔地区,土壤的干燥引起土壤有机物累积和分解受限。这样真菌能够更好地参与土壤中有有机物的分解和营养元素的循环过程,并在土壤湿度极低的情况下转运营养物和制造有机物。

3.2 DSE 定殖率随海拔梯度的空间变化

Casanova - Katny 等调查了智力安第斯山脉 3 200、3 600 m 海拔环境中 23 种植物共生真菌的定殖,发现海拔越高 DSE 侵染程度越大^[17]。Zubek 等调查斯洛伐克西喀尔巴阡山脉 *Soldanella carpatica*、*Homogyne alpine* 的 AM 真菌和 DSE 的定殖状况发现,随海拔的升高,AM 真菌的定植率降低,DSE 的侵染率升高,且 DSE 与 AM 真菌共存于同一根系中^[18]。Read 等对澳大利亚一定海拔范围内高山区菌根状况的调查发现,DSE 定植程度与海拔存在一定相关性^[19]。DSE 在研究的所有海拔范围内均有分布,但是最高定殖率发生在高海拔区域,说明 DSE 在高海拔区的适应性和普遍性可能比 AM 真菌更为重要^[19-20]。本研究结果呈现出一致性,即随海拔的升高,菌丝定殖率、微菌核定殖率和总定植率逐渐增大,进一步表明 DSE 的存在可能具有协助植物生长和抗逆的功能,预示 DSE 可能在逆境中是一群具有重要生态功能的真菌,与菌根真菌一样,在植物吸收营养和水分方面具有重要作用。

参考文献:

[1]张玉洁. 植物深色有隔内生真菌(DSE)的研究进展[J]. 文山学院学报,2010,23(1):145-150.

[2]Addy H D,Piercey M M,Currah R S. Microfungal endophytes in roots [J]. Canadian Journal of Botany,2005,83(1):1-13.

[3]梁昌聪,肖艳萍,赵之伟. 云南会泽废弃铅锌矿区植物丛枝菌根和深色有隔内生真菌研究[J]. 应用与环境生物学报,2007,13(6):811-817.

[4]班宜辉,徐舟影,杨玉荣,等. 不同程度铅锌污染区丛枝菌根真菌和深色有隔内生真菌侵染特征[J]. 西北植物学报,2012,32(11):2336-2343.

[5]Li B K,He X L,He C,et al. Spatial dynamics of dark septate endophytes and soil factors in the rhizosphere of *Ammopiptanthus mongolicus* in Inner Mongolia,China[J]. Symbiosis,2015,65(2):75-84.

[6]何恒斌,郝玉光,丁 琮,等. 沙冬青植物群落特征及其根瘤多样性研究[J]. 北京林业大学学报,2006,28(4):123-128.

[7]Wei Q,Guo Y J,Cao H M. Cloning and characterization of an AtNHX2-like Na⁺/H⁺ antiporter gene from *Ammopiptanthus mongolicus* (Leguminosae) and its ectopic expression enhanced drought and salt tolerance in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Tissue and Organ Culture,2011,105(3):309-316.

[8]Phillips J M,Hayman D S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection[J]. Transacitons of the British Mycological Society,1970,55:158-161.

[9]Giovannetti M,Mosse B. An evaluation of technique for measuring vesicular - arbuscularmycorrhizaal infection in roots [J]. New Phytologist,1980,84:489-500.

[10]He X L,Li Y P,Zhao L L. Dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in the rhizosphere of *Artemisia ordosica* Krasch. in Mu us sandland, China [J]. Soil Biology and Biochemistry,2010,42(8):1313-1319.

[11]Bagyalakshmi G,Muthukumar T,Sathiyadash K,et al. Mycorrhizal and dark septate fungal associations in shola speciesof Western Ghats,southern India[J]. Mycoscience,2010,51:44-52.

[12]Kauppinen M,Raveala K,Wali P R,et al. Contrasting preferences of arbuscular mycorrhizal and dark septate fungi colonizing boreal and subarctic *Avenella flexuosa* [J]. Mycorrhiza,2014,24(3):171-177.

[13]Lugo M,Reinhart K O,Menoyo E,et al. Plant functional traits and phylogenetic relatedness explain variation in associations with root fungal endophytes in an extreme arid environment[J]. Mycorrhiza,2015,25(2):85-95.

[14]Reininger V,Sieber T N. Mitigation of antagonistic effects on plant growth due to root co - colonization by dark septate endophytes and ectomycorrhiza [J]. Environmental Microbiology Reports,2013,5(6):892-898.

[15]Mandyam K,Jumpponen A. Seeking the elusive function of the root - colonising dark septate endophytic fungi [J]. Studies in Mycology,2005,53:173-189.

[16]Porras - Alfaro A,Herrera J,Sinsabaugh R L,et al. Novel root fungal consortium associated with a dominant desert grass[J]. Applied and Environmental Microbiology,2008,74:2805-2813.

[17]Angelica Casanova - Katny M,Adolfo Torres - Mellado G A,Cavieres L A. The best for the guest; high Andean nurse cushions of *Azorella madreporica* enhance arbuscular mycorrhizal status in associated plant species[J]. Mycorrhiza,2011,21(7):613-622.

[18]Zubek S,Blaszkowski J,Delimat A,et al. Arbuscular mycorrhizal and dark septate endophyte colonization along altitudinal gradients in the tatra mountains [J]. Arctic Antarctic and Alpine Research,2009,41(2):272-279.

[19]Read D J,Haselwandter K. Observations on the mycorrhizal status of some Alpine plant communities [J]. New Phytologist,1981,88:341-352.

[20]Mandyam K,Jumpponen A. Seeking the elusive function of the root - colonising dark septate endophytic fungi [J]. Studies in Mycology,2005,53:173-189.