# 海南霸王岭热带雨林常见植物丛枝菌根真菌调查\*

梁昌聪 赵素叶 刘 磊 黄俊生\*\*

(中国热带农业科学院环境与植物保护研究所,海南儋州 571737)

摘 要 对海南霸王岭热带雨林的 12 科 16 种常见植物的丛枝菌根状况进行了调查 ,用碱解离-酸性品红染色法进行了真菌鉴定。结果表明 ,13 种植物形成典型的丛枝菌根 ,占所调查植物的 81% 3 种植物没有形成丛枝菌根 ,占所调查植物的 19%。用湿筛沉淀法从这些植物根际土壤中共分离鉴定出了 3 属 11 种丛枝菌根真菌( AMF ) ,即无梗囊霉属( Acaulospora )3 种 球囊霉属( Glomus )7 种 ,巨孢囊霉属( Gigaspora )1 种 ;其中 球囊霉属是样地的优势属。在 AMF 中 ,孔窝无梗囊霉( A. foveata )分离频率最高 ,在 14 种植物的根际土中都有发现 ,此外 ,大果球囊霉( G. macrocarpum )的相对多度最大 ,为 59% ,具有最强的产孢能力。同时 ,在 11 种植物的根中发现了深色有隔内生真菌( DSE ) ,占调查植物的 69% ;其中 ,11 种植物同时被 DSE 和 AMF 感染。

关键词 热带雨林;丛枝菌根真菌;深色有隔内生真菌

中图分类号 093 文献标识码 A 文章编号 1000-4890(2010)2-0269-05

Arbuscular mycorrhizal fungi associated with common tree species in a tropical rain forest in Bawangling of Hainan Island, China. LIANG Chang-cong, ZHAO Su-ye, LIU Lei, HUANG Jun-sheng ( Environment and Plant Protection Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou 571737, Hainan, China). Chinese Journal of Ecology, 2010, 29 (2) 269–273.

Abstract: An investigation was made on the arbuscular mycorrhiza (AM) and dark septate endophytes (DSE) associated with 16 common plant species belonging to 12 families in a tropical rain forest in Bawangling of Hainan Island, China. The fungi were identified by alkaline lysising and acid fuchsin staining. Among the surveyed plant species, 13 of them (occupying 81% of the total) were typically colonized by arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), while 3 species (about 19%) did not form AM. Eleven AMF species in 3 genera were isolated from the rhizosphere soils by wet-sieving, of which, 3 species came from Acaulospora, 7 species from Glomus, and 1 species from Gigaspora. Glomus was the dominant genus. A. foveata was the most common species, which was found in the rhizosphere soils of 14 plant species. G. macrocarpum had the highest ability to produce spores, and its relative abundance was 59%. Eleven plant species (about 69% of the total) were found to be colonized by DSE, occupying 69% of the total; and 11 plant species were simultaneously colonized by AMF and DSE.

Key words: tropical rain forest; arbuscular mycorrhizal fungi; dark septate endophytes.

海南岛的热带雨林处于我国最南端,是保存最好的热带天然林类型,其在维持全岛的生态平衡、改善生态环境中具有不可替代的功能。其中霸王岭是典型的热带山地雨林,由于受到砍伐,霸王岭热带雨林的面积在不断减少,保护和恢复这些植被已经显

得十分紧迫。关于海南霸王岭热带雨林的植物组成、群落结构、季相变化、植被类型划分等已做了很多研究(余世孝等,2001;臧润国等,2001,2002)。 但对这类植被地下部分尤其是丛枝菌根(arbuscular mycorrhizae,AM)的组成和群落结构的认识却十分有限。

丛枝菌根是由土壤中的丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)与维管束植物根系形

<sup>\*</sup>国家公益性行业(农业)科研专项项目(200903049-01)和中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资助项目(2009hzs1,1003)。

<sup>\* \*</sup> 通讯作者 E-mail:h888111@126.com 收稿日期:2009-07-07 接受日期:2009-09-19

成的互惠共生体。调查表明 80% 以上的植物能够形成丛枝菌根(Trapper ,1987)。AMF 能改变促进植物生长的生物或非生物因素 ,并且对植物的萌发、生长、开花都会产生巨大的影响(Johnson *et al.*,1997)。因此 ,在自然界生态系统中 ,AMF 的组成和动态对植物群落结构和多样性都具有重要影响。

深色有隔内生真菌(dark septate endophytes, DSE)指定居在植物根组织细胞内或细胞间隙,在分类学上较为混杂的一群子囊菌和无性繁殖的真菌(Jumpponen 2001),目前发现这类真菌在胁迫生态系统(如干旱、寒冷等环境)中常常在植物根系上形成较高的定居率,但其与植物的关系、在生态系统中的功能却不清楚。

本研究以海南霸王岭热带雨林为研究对象,随机采取了16 种植物的根和根际土样,对每种植物根系上的 AMF 和 DSE 侵染情况、根际土壤中 AMF 的多样性、孢子的密度以及各种 AMF 的出现频率等进行了研究,以了解每种植物菌根化的程度及植物与AMF 孢子密度和多样性的关系,丰富了对菌根在自然生态系统中功能的认识,为当地植被的恢复与重建及物种多样性保护提供科学依据。

#### 1 研究地区与研究方法

#### 1.1 研究区概况

霸王岭国家级自然保护区位于海南岛西南部 (108°53′E—109°12′E,18°53′N—19°20′N) 地跨东方、昌江和白沙 3 县 ,总面积  $72000~hm^2$ 。 其山系均为东北-西南走向。保护区属于热带亚热带气候,受季风影响大 ,四季不明显 ,干湿季分明 ;年平均气温为 23.6~°C ,年均降水量 1751.1~mm ,年平均相对湿度 76%~82%。土壤以砖红壤为代表类型 ,随着海拔的升高逐渐过渡为山地红壤、山地黄壤和山地草甸土。

### 1.2 样品采集

2008 年 12 月初 ,在海南省昌江县霸王岭国家级自然保护区样地共采集了 12 科 16 种植物。在采集根样时 ,选取与所选植物主根相连的须根 ,并尽量采取带根尖的根段。将新鲜根段剪成 2~5 cm 的小段 ,固定于装有 1/2 FAA 的固定液( 福尔马林 5 ml , 冰醋酸 5 ml ,70% 酒精 90 ml ,用时稀释 1 倍 )的青霉素小瓶中 ,采取根样的同时从其根际 5~30 cm 的土层中挖取 1 kg 左右的土壤 ,装于采样袋内 ,经自然风干后 4  $^{\circ}$  C保存 2 个月内处理完。

#### 1.3 材料处理

根样用碱解离、酸性品红染色法处理(Berch & Kendrick,1982)制成封片。每种植物选取 30 个以上 1~2 cm 的小根段,用十字交叉法(McGonigle et al.,1990)在光学显微镜下观察记录丛枝,泡囊,菌丝和 DSE 的感染情况,把感染率在 75%以上的记为深度感染,介于 25%~75%和低于 25%的分别记为中度感染和轻度感染。

土样在自然风干后,每个样品称取 50 g 采用湿筛沉淀法( Koske & Walker ,1984 )分离 AMF 孢子和孢子果,在解剖镜下对健康的孢子和孢子果进行计数。

## 1.4 AMF 鉴定方法

对 AMF 的鉴定以形态特征为依据,补充组织化学分类法,并且参照 AMF 种的原始发表文献及国际菌种保藏中心(International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi, INVAM)在 Internet (http://invam.caf.wvu.edu)上提供的种属描述及图片进行 AMF 种的鉴定。

#### 1.5 数据处理

用 Microsoft Office Excel 2003 进行原始数据统计 涉及的参数有:孢子密度(spore density,SD),在100 g 土中所分离到的孢子和(或)孢子果的总数;物种丰富度(species richness,SR)每个样本根际土中所发现的 AMF 的种数;分离频率(isolation frequency, IF)指(每种 AMF 在所有土壤样本里的分离次数/所有 AMF 总的分离次数)×100;相对多度(relative abundance,RA)指(每种 AMF 的孢子数目/所有的已经鉴定出来的 AMF 的总的孢子数目)×100。

均匀度(species evenness)常用均匀度指数(J)来描述:

 $J = H/\ln S$ 

式中 H 为 Shannon-Weiner 指数 S 为采样点的 AM 真菌种类数目。

物种多样性(species diversity)与群落中的种数和相对多度密切相关(郑师章等,1994),本文采用香农-威纳指数(Shannon-Weiner index)指数来描述AM 真菌的物种多样性:

$$H = -\sum P_i \ln P_i$$

式中  $P_i$  为各树种土样中种 i 的 AM 孢子数  $N_i$  与样地内所有孢子总数的 N 之比 i 即  $P_i = N_i/N$ 。

#### 2 结果与分析

#### 2.1 丛枝菌根和 DSE 状况

在所调查的 12 科 16 种植物中,有 13 种植物形成典型的 AM,约占所调查植物的 81% 3 种植物没有发现 AM,约占 19%(表 1)。在调查的 16 种植物中,有 11 种植物检测到了 DSE(表 1),占所调查植物的 69%,没有发现 DSE 感染的植物有 5 种,占31%;同时感染 DSE 和 AM 的有 11 种植物,占69%。从所调查植物根际土壤中分离得到的 AMF孢子,孢子密度介于 68~1162 个·100 g<sup>-1</sup>土,最低的是乌墨的根际周围土壤,最高是五叶牡荆的根际周围土壤,平均孢子密度为 356 ± 73 个·100 g<sup>-1</sup>土。所调查样地的 AMF 物种丰富度介于 3~8,最少的是小盘木和乌墨的根际周围土壤,最多的是橄榄、黄毛榕和毛荔枝的根际周围土壤,平均物种丰富度为 5.56 ± 0.42。

## 2.2 根际土壤中分离出的 AMF 孢子

从分离的孢子中共鉴定出了 3 属 11 种 AMF, 分别是:无梗囊霉属 3 种, 球囊霉属 7 种, 巨孢囊霉属 1 种。AMF以近明球囊霉、缢缩球囊霉、大果球囊霉、极大巨孢囊霉为主。其中, 分离频率最高的是孔窝无梗囊霉, 为 87.50%(表 2), 在被调查的 16 种植物中,14 种植物根际土壤中都分离到;最低的是地球囊霉、弯丝球囊霉和粘质球囊霉,为 6.25%(表 2),在被调查的 16 种植物中,只有 1 种植物根际土壤中分离到。此外相对多度最大的是大果球囊霉,为 58.94%(表 2),在所分离到的 11 种 AMF 中数量最多;最小的是弯丝球囊霉,为 0.08%(表 2),在所分离到的 11 种 AMF 中数量最多;最小的是弯丝球囊霉,为 0.08%(表 2),在所分离到的 11 种 AMF 中数量最少。

海南霸王岭 AMF 的均匀度指数为 0.59 ;AMF 的多样性指数为 1.42。多样性指数反映了该地 AM 真菌种的丰度、均匀度及受人为因素影响的程度。

表 1 海南霸王岭热带雨林植物的 AMF、DSE 状况及根际土壤中 AMF 孢子密度和物种丰富度 Tab. 1 Colonization of AMF and DSE in roots , spore density and species richness in rhizosphere soils in the tropical rain forest in Bawangling of Hainan

植物中文名	学名	菌丝	泡囊	丛枝	DSE	AM	SD	SR
 番荔枝科	Annonaceae							
银钩花	Mitrephora thorelii	++	+	+ +	+	+	460	6
夹竹桃科	Apocynaceae							
仔榄树	Hunteria zeylanica	++	+	-	++	+	538	4
紫薇科	Bignoniaceae							
猫尾树	$Dolich and rone\ cauda-felina$	+	+	-	-	+	340	5
紫草科	Boraginaceae							
越南破布木	Cordia cochinchinensis	+++	+	+	+	+	240	7
厚壳树	$Ehretia\ thyrsiflora$	-	-	-	-	-	116	5
橄榄科	Canarium							
橄榄	Canarium album	+	+	_	+	+	238	8
大戟科	Euphorbiaceae							
白茶	Koilodepas hainanensis	+	+	+	+	+	82	7
小盘木	Microdesmis casearifolia	-	-	-	-	-	102	3
大风子科	Flacourtiaceae							
海南大风子	Hydnocarpus hainanensis	++	+	+	+	+	126	6
桑科	Moraceae							
黄毛榕	Ficus fulva	+	+	_	_	+	502	8
见血封喉	Antiaris toxicaria	++	+	+	+	+	554	5
桃金娘科	Myrtaceae							
乌墨	Syzygium cumini	+	+	_	+	+	68	3
天料木科	Samydaceae							
红花天料木	Homalium Hainanense	++	+	_	+	+	154	4
无患子科	Sapindaceae							
毛荔枝	Nephwlium topengii	+	+	-	+	+	686	8
野荔枝	Litchi chinensis var. Cuspontanea	_	_	_	_	_	326	5
马鞭草科	Verbenaceae							
五叶牡荆	Vitex quinata	+ +	+	_	+	+	1162	5

菌丝、泡囊、丛枝栏中的' + "为轻度感染 ", + + "为中度感染 ", + + + "为深度感染 ", – "为没有感染 ;AM、DSE 栏中的' + "为具有 ", – "为无

表 2 海南霸王岭热带雨林土壤中的丛枝菌根真菌(AMF) 及其分离频率和相对多度

Tab. 2 AMF and their isolation frequency ( IF ) and relative abundance ( RA ) in the rhizosphere soils in the tropical rain forest in Bawangling of Hainan

序号	AM	分离频率	相对多度 (%)	
כית	中文名    拉丁名			
	无梗囊霉属	Acaulospora	93. 75	4. 66
1	孔窝无梗囊霉	A. foveata	87.50	4. 01
2	细凹无梗囊霉	A. scrobiculata	12.50	0. 16
3	瘤突无梗囊霉	A. tuberculata	37.50	0.49
	球囊霉属	Glomus	100.00	94. 16
4	近明球囊霉	G. claroideum	56. 25	20. 15
5	缢缩球囊霉	G. constrictum	31. 25	11. 39
6	地球囊霉	G. geosporum	6. 25	0.36
7	大果球囊霉	G. macrocarpum	68.75	58. 94
8	小果球囊霉	G. microcarpim	37.50	2. 27
9	弯丝球囊霉	G. sinuosum	6. 25	0.08
10	粘质球囊霉	G. viscosum	6. 25	0.97
	巨孢囊霉属	Gigaspora	75.00	1. 18
11	极大巨孢囊霉	Gi. gigantea	75.00	1. 18

#### 3 讨论

海南霸王岭热带雨林 16 种植物 81% 能形成 AM,这一结果与其他热带雨林植物的 AM 状况接近,云南西双版纳不同类型的热带雨林中 56% (Zhao et al. 2001),67%(赵之伟等 2001)和100% (房辉等 2006)的植物具有 AM;与其他生态系统植物的 AM 状况也接近,污染生态系统中 71%(梁昌聪等 2007)和干热河谷生态系统中 70%(赵之伟等 2003)的植物具有 AM。本研究中 AMF 的侵染水平与 AMF 孢子数量间没有发现高度的相关性,与先前的一些报道一致(Zahka et al. 1995;Brundrett et al. 1996)。

在本研究中,AMF 平均孢子密度为( $356\pm73$ ) 个  $\cdot$   $100 \,\mathrm{g}^{-1}$  土 其孢子数量变化范围在  $68 \sim 1162$  个  $\cdot$   $100 \,\mathrm{g}^{-1}$  土。与干热河谷土壤中孢子密度( $5\sim6400$  个  $\cdot$   $100 \,\mathrm{g}^{-1}$  土,平均 1504 个)(李建平等,2003)相比,本研究的 AMF 孢子密度低;与西双版纳热带雨林土壤中孢子密度( $116\sim1560$  个  $\cdot$   $100 \,\mathrm{g}^{-1}$  土,平均 478 个)(赵之伟等 2001)接近。本研究较低的孢子密度可能是由于热带雨林潮湿的环境下,土壤含水量高使孢子腐烂分解。

所调查的紫草科的厚壳树、大戟科的小盘木、无患子科的野荔枝这3种植物在海南霸王岭热带雨林均不能形成丛枝菌根,但是在它们的根际土壤中却发现 AMF 孢子,这可能是相邻植物的根常交织在一

起 因而寄主根围的孢子可能来自其他的伴生植物 (Muthukumar & Udaiyan ,2000 ;Zhao et al. ,2001 )。 在调查中还发现 ,各种感染 AMF 的植物根际土壤中 AMF 的孢子密度变化较大 ,其中孢子密度最高的是 五叶牡荆 1162 个 ,密度最低的是乌墨 68 个 ,这种在 同一区域不同植物根际土壤中 AMF 孢子的非均匀分布是由植物和 AMF 的生物学特性决定的 ,AMF 虽然没有宿主专一性 ,但宿主植物对 AMF 却具有一定的选择性或是亲和性(preference),由于不同种类的 AMF 产孢能力不一样 ,不同植物与不同的 AMF 组合造成了不同植物根际土壤中孢子密度的差异。

从16种植物的根际土壤中共分离鉴定出3属11种AMF,其中球囊霉属的分离频率为100%,相对多度为94.16%,为该区域的优势属。这与其他热带雨林的研究结果是一致的(Guadarrama & Alvarez-Sanchez,1999;赵之伟等,2001;Zhao et al.,2001;房辉等2006;石兆勇等2007)。此外,在本研究中,还从所采植物的根际土壤中分离到无梗囊霉属3种,巨孢囊霉属1种。

分离频率(IF)和相对多度(RA)是描述物种优势度的两个重要参数,本研究将分离频率和相对多度都>10%的种定为优势种;分离频率和相对多度在3%~10%的种为常见种,以此为标准,本调查中的优势种为近明球囊霉,溢缩球囊霉,大果球囊霉;常见种为孔窝无梗囊霉。其中,大果球囊霉的相对多度最大约为59%,且分离频率约为69%表明其具有较强的产孢能力又有较广的分布范围。

DSE 可通过其较深的颜色( 红棕色~褐色 ), 加厚的菌丝壁及频繁出现的菌丝横隔 将其与 AMF 的菌丝区分开。在本研究研究中,有 69% 植物检测到了 DSE, 并且有 69% 植物同时感染 DSE 和 AM。说明热带雨林生态系统中, 植物形成 AM 的同时也普遍被 DSE 感染。有关 DSE 的研究报道很多,但关于 DSE 与 AMF、宿主植物的相互关系及在植物根系中的生态学功能尚无定论, 有研究认为, DSE 很可能同 AMF 一样具有促进植物生长和对营养物质吸收的功能( Jumpponen & Trappe, 1998; Jumpponen 2001 )。在热带雨林生态系统中, DSE 普遍存在于不同植物的根系, 其与植物的关系以及与 AMF 的互作机理值得进一步研究。

#### 参考文献

房 辉, Damodaran PN, 曹 敏. 2006. 西双版纳热带次生

- 林中的丛枝菌根调查. 生态学报, **26**(12):4179-4185. 李建平,李 涛,赵之伟. 2003. 金沙江干热河谷(元谋段) 丛枝菌根真菌多样性研究. 菌物系统, **22**(4):604-612.
- 梁昌聪,肖艳萍,赵之伟. 2007. 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. 应用与环境生物学报,13(6):811-817.
- 石兆勇, 王发园, 陈应龙. 2007. 五指山常见热带树种的丛枝菌根真菌多样性. 生态学报, 27(7):2896-2903.
- 余世孝,臧润国,蒋有绪. 2001. 海南岛霸王岭不同热带森林类型的种-个体关系. 植物生态学报,**25**(3):291-297.
- 臧润国,蒋有绪,余世孝. 2002. 海南霸王岭热带山地雨林 森林循环与树种多样性动态. 生态学报,**22**(1):24-32.
- 臧润国,杨彦承,蒋有绪.2001.海南岛霸王岭热带山地雨 林群落结构及树种多样性特征的研究.植物生态学报, 25(3):270-275.
- 赵之伟,李习武,王国华,等. 2001. 西双版纳热带雨林中丛枝菌根真菌的初步研究. 菌物系统,**20**(3):316-323.
- 赵之伟,任立成,李 涛,等. 2003. 金沙江干热河谷(元谋段)的丛枝菌根. 云南植物研究,**25**(2):199-204.
- 郑师章,吴千红,王海波,等.1994.普通生态学——原理、 方法和应用.上海:复旦大学出版社.
- Berch SM , Kendrick B. 1982. Vesicular-arbuscular mycorrhizae of southern Ontario ferns and fern-allies. *Mycologia* , **74**: 769–776.
- Brundrett MC, Ashwath N, Jasper DA. 1996. Mycorrhizas in the Kakadu region of tropical Australia: Propagules of mycorrhizal fungi and soil properties in natural habitats. *Plant* and Soil, 84:159-171.
- Guadarrama P , Alvarez-Sanchez FJ. 1999. Abundance of arbuscular mycorrhizal fungal spores in different environments in a tropical rain forest , Veracruz , Mexico. *Mycorrhiza* , **8**: 267–270.

- Johnson NC, Graham JH, Smith FA. 1997. Functioning of mycorrhizal association along the mutualism-parasitism continuum. New Phytologist, 135:575-585.
- Jumpponen A , Trappe JM , 1998. Dark septate endophytes: A review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. New Phytologist , 140: 295–310.
- Jumpponen A. 2001. Dark septate endophytes Are they mycorrhizal ?Mycorrhiza , 11 : 207–211.
- Koske RE, Walker C. 1984. Gigaspora erythropa, a new species forming arbuscular mycorrhizae. *Mycologia*, **76**:250–255.
- McGonigle TP, Miller MH, Evans DG, et al. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist, 115: 495–501.
- Muthukumar T , Udaiyan K. 2000. Arbuscular mycorrhizas of plants growing in the Western Ghats region , Southern India. *Mycorrhiza* , 9:297–313.
- Trapper JM. 1987. Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint// Safir GR, ed. Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants. Boca Raton, FL: Cr C Press: 5-26.
- Zahka GA, Baggett KL, Wong BL. 1995. Inoculumpotential and other VAM fungi parameters in four sugar maple forests with different levels of stand dieback. Forest Ecology and Management, 75:123-134.
- Zhao ZW , Xia YM , Qin XZ , et al. 2001. Arbuscular mycorrhizal status of plants and the spore density of arbuscular mycorrhizal fungi in the tropical rain forest of Xishuangbanna , southwest China. *Mycorrhiza* , 11:159–162.

作者简介 梁昌聪 ,男 ,1980 年生 ,硕士 ,研究实习员。主要 从事菌根和生物防治方面的研究。E-mail:leconghn@ yahoo. com. cn

责任编辑 魏中青