

# 发酵牛粪对苏丹草根系丛枝菌根 (AM) 真菌侵染 及磷吸收效率的影响<sup>①</sup>

崔向超<sup>1,3</sup>, 胡君利<sup>1</sup>, 林先贵<sup>1\*</sup>, 戴 珏<sup>1,3</sup>, 王 锐<sup>1,2</sup>, 王俊华<sup>1</sup>, 王一明<sup>1</sup>

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室 (中国科学院南京土壤研究所), 南京土壤研究所-香港浸会大学土壤与环境联合开放实验室, 南京 210008; 2 南京师范大学生命科学学院, 南京 210046; 3 中国科学院研究生院, 北京 100049)

**摘 要:** 通过温室盆栽试验, 研究接种苏格兰球囊霉 (*Glomus caledonium*) 条件下添加不同比例发酵牛粪 (0.33%、0.50% 和 1.00%) 对苏丹草 (*Sorghum sudanense*) 根系丛枝菌根 (AM) 真菌侵染率、土壤孢子密度、植株生物量与根冠比及根系磷 (P) 吸收效率的影响。结果发现, 与对照相比, 接种 AM 真菌处理植株地上部生物量趋于下降、根冠比显著提高 ( $p < 0.05$ ), 在此基础上添加 0.33% 或 0.50% 发酵牛粪处理土壤孢子密度、植株根系生物量和 AM 真菌侵染率均趋于升高, 根冠比没有明显变化, 根系 P 吸收效率显著提高 ( $p < 0.05$ ); 添加 1.00% 发酵牛粪显著提高土壤孢子密度、植株生物量和根系 AM 真菌侵染率 ( $p < 0.05$ ), 根冠比与仅接种 AM 真菌处理相同, 根系 P 吸收效率则达到仅接种 AM 真菌处理的 1.83 倍。结果表明, 添加 1.00% 发酵牛粪对苏格兰球囊霉扩繁及其宿主植物 P 吸收均具有突出促进作用。

**关键词:** 发酵牛粪; 苏丹草; AM 真菌侵染率; 土壤孢子密度; 植株根冠比; 磷吸收效率

**中图分类号:** S154.3

丛枝菌根 (arbuscular mycorrhizae, AM) 真菌作为生物肥料或生防益菌, 对环境保护、推广无公害农业以及建立可持续农业生产体系具有重要意义<sup>[1]</sup>。由于 AM 真菌不能进行纯培养, 目前主要依靠钵钵培养法通过种植宿主植物来获得含有孢子、菌丝和被侵染根段的混合菌剂<sup>[2-3]</sup>, 由于培育周期长, 严重限制了其规模化生产与推广应用<sup>[4-5]</sup>。研究表明, 菌剂扩繁中如何改进培养基质进而提高繁殖体产量至为关键<sup>[6]</sup>, 其营养条件对所生产菌剂的接种势亦存在较大影响, 如沙土混合物对摩西球囊霉 (*Glomus mosseae*) 的生长发育有利<sup>[1]</sup>, 砖粉和沙能够提高根内球囊霉 (*Glomus intraradices*) 的繁殖体数量<sup>[7]</sup>, 造纸干粉和菇渣可以增进苏格兰球囊霉 (*Glomus caledonium*) 的侵染效果<sup>[8-9]</sup>。另从田间长期定位试验来看, 施用不同类型肥料对 AM 真菌的侵染具有不同影响<sup>[10-11]</sup>, 添加适量有机肥对 AM 真菌的生长发育具有促进作用<sup>[12-13]</sup>, 但也有研究发现施加有机肥降低了 AM 真菌侵染率<sup>[14-15]</sup>, 这应与土壤肥力状况、宿主植物类型和 AM 真菌种类等有关<sup>[13]</sup>。

近年来随着我国畜牧养殖业的快速发展, 畜禽粪便数量越来越多, 未经腐熟即随意弃置或直接施用均会造成环境污染, 堆肥发酵可以变废为宝并解决污染问题<sup>[16-18]</sup>。例如, 发酵牛粪既富含营养成分又安全无公害, 在改善土壤肥力、提高作物产量和品质等方面皆有广泛应用<sup>[17-22]</sup>, 但在 AM 菌剂扩繁应用方面未见报道。研究表明, AM 真菌对宿主植物生长的促进效应主要通过根系侵染来增进 P 等矿质营养的吸收<sup>[23]</sup>。本试验通过研究添加不同比例发酵牛粪对苏丹草根系 AM 真菌侵染率、植株 P 吸收量以及土壤孢子密度的影响, 筛选对 AM 真菌生长发育及其宿主生长适宜的添加比例, 以期为 AM 菌剂生产提供理论基础和技术依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试发酵牛粪由南京东郊某奶牛厂提供, pH 值 6.89, 有机 C 98.20 g/kg, 全 N 15.10 g/kg, 全 P 3.71 g/kg, 全 K 4.92 g/kg。试验容器为直径 11.5 cm、高

<sup>①</sup>基金项目: 中国科学院知识创新工程领域前沿项目 (ISSASIP0703), 公益性行业 (农业) 科研专项经费项目 (20090301-1) 和中国科学院知识创新工程重大项目 (KSCX1-YW-09-05) 资助。

\* 通讯作者 (xglin@issas.ac.cn)

作者简介: 崔向超 (1988—), 男, 河南省确山人, 硕士研究生, 主要从事菌根生态过程及其应用技术研究。E-mail: xccui@issas.ac.cn

11 cm、底部有孔的塑料盆, 供试植物为苏丹草 (*Sorghum sudanense*), 所接种 AM 真菌为由本实验室从潮土中分离并扩繁保藏的苏格兰球囊霉 (*Glomus caledonium*), 菌种编号为 90036。

供试土壤为采自河南封丘的潮土(经 121℃ 高压蒸汽灭菌 2 h), 其基本化学性质: pH 值 8.60, 有机 C 3.66 g/kg, 全 N 0.35 g/kg, 全 P 0.55 g/kg, 全 K 21.5 g/kg。

### 1.2 试验设计

试验共设 20 盆, 每盆装土 600 g, 分 5 个处理(各 4 个重复): CK (对照)、AM (按土壤质量的 5% 接种 30 g AM 菌剂)、AM + 0.33%、AM + 0.50% 和 AM + 1.00% 牛粪(接种 30 g AM 菌剂并按土壤质量的 0.33%、0.50% 和 1.00% 分别添加 2、3 和 6 g 发酵牛粪), CK 处理施加等量但灭活的 AM 菌剂。每盆播种 30 粒苏丹草种子, 出苗 30 天后采集植株样和土样。

### 1.3 测定方法

采用根段频率法测定苏丹草根系的 AM 真菌侵染率<sup>[24]</sup>, 采用湿筛倾析法获得土壤中的孢子<sup>[25]</sup>, 然后在体视显微镜检测孢子数量; 采用常压恒温干燥法测定植株生物量(分茎叶和根系)<sup>[26]</sup>, 采用 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 法对植物样进行消煮, 然后用钼锑抗比色法测定植株全 P 含量<sup>[26]</sup>。

### 1.4 数据处理

根据苏丹草收获时地上部和根系的植株 P 吸收总量与根系干重的比值计算根系 P 吸收效率, 公式如下<sup>[27]</sup>:

$$\text{根系 P 吸收效率} = \frac{\text{植株 P 吸收总量 (mg/盆)}}{\text{根系干重 (g/盆)}}$$

采用 Excel2003 绘图, 采用 SPSS13.0 进行多重比较 (Duncan 检验,  $p < 0.05$ ) 分析, 并对植株 P 吸收总量和 AM 真菌侵染率进行相关性分析 (双侧检验,  $p < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 AM 真菌侵染率与孢子密度

图 1 是不同处理苏丹草根系 AM 真菌侵染率和土壤孢子密度。由图 1 可知, 随着发酵牛粪添加比例的提高, 苏丹草根系 AM 真菌侵染率和土壤孢子密度均逐渐升高, 添加 1.00% 发酵牛粪对两者的促进作用均达到显著水平 ( $p < 0.05$ ), 说明对土壤中孢子的生长发育及其侵染均较为有利。王淼焱等<sup>[11]</sup>研究发现施有机肥后宿主植物根系 AM 真菌侵染率显著低于不施肥对照, 与本试验结果不同, 这是因为本试验中供试潮土为贫瘠的砂壤土, 添加适量的发酵牛粪可以提高土壤肥力、改善土壤结构, 进而能够增进 AM 真菌的侵染<sup>[12]</sup>。

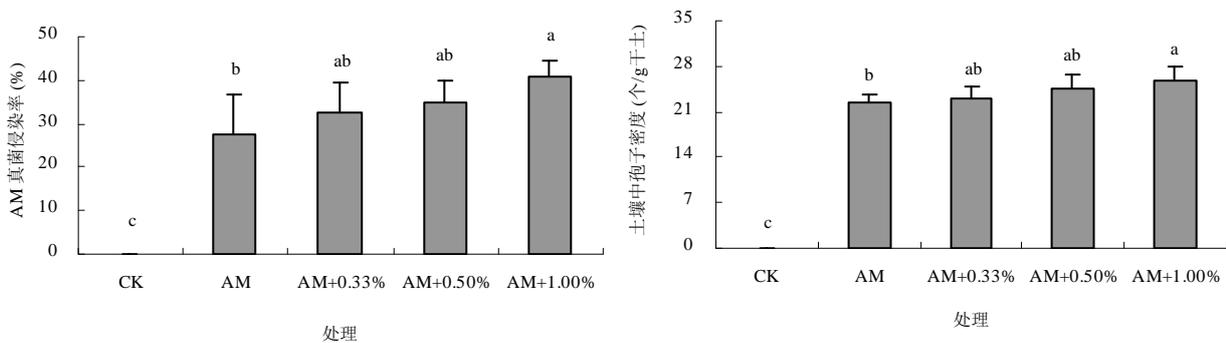


图 1 苏丹草根系 AM 真菌侵染率与土壤孢子密度

Fig. 1 Soil spore density and AM colonization in root system of *Sorghum sudanense*

### 2.2 植株生物量与根冠比

表 1 示不同处理苏丹草植株地上部与根系的生物量及根冠比。与对照处理相比, 接种 AM 真菌处理苏丹草地上部生物量平均降低了 17.5%, 根系生物量没有明显变化, 根冠比则显著提高了 25.4% ( $p < 0.05$ )。这是因为 AM 真菌促进植株碳向地下根部的分配, 以给菌丝生长及菌根共生体呼吸提供所需要的营养, 当

AM 真菌对植株的生长促进作用弥补不了植物碳的损失时造成了地上部生物量的下降<sup>[28]</sup>。接种 AM 真菌基础上添加发酵牛粪处理苏丹草生物量相应升高, 其中添加 0.33% 或 0.50% 处理植株地上部生物量提高至与对照处理相当的水平, 根系生物量分别提高 10.7% 和 13.8%; 添加 1.00% 处理植株地上部和根系生物量分别显著提高了 32.5% 和 32.8% ( $p < 0.05$ )。由此可

见, 添加适量发酵牛粪不会降低植株由于受到 AM 真菌侵染而提高的根冠比, 并可同时促进植株地上部和根系生长, 其中添加 1.00% 处理对苏格兰球囊霉扩散及其宿主生长具有良好效应。

表 1 苏丹草植株生物量及根冠比

Table 1 Plant biomass and root-shoot ratio of *Sorghum sudanense*

处理	地上部生物量 (g)	根系生物量 (g)	根冠比
CK	1.49 ± 0.11 ab	0.56 ± 0.10 b	0.37 ± 0.05 b
AM	1.23 ± 0.16 b	0.58 ± 0.12 b	0.47 ± 0.04 a
AM+0.33% 牛粪	1.41 ± 0.28 ab	0.62 ± 0.12 ab	0.44 ± 0.01 ab
AM+0.50% 牛粪	1.42 ± 0.04 ab	0.66 ± 0.12 ab	0.46 ± 0.07 a
AM+1.00% 牛粪	1.63 ± 0.15 a	0.77 ± 0.04 a	0.47 ± 0.06 a

注: 同列不同小写字母表示不同处理间差异显著 ( $p < 0.05$ )。

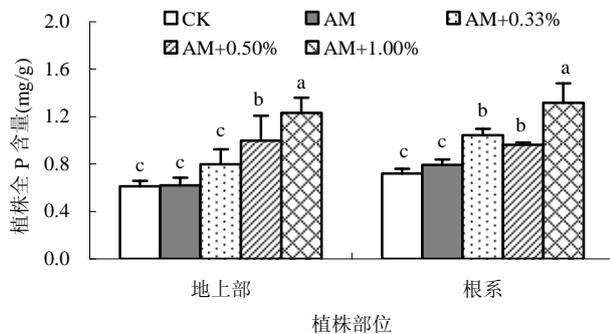
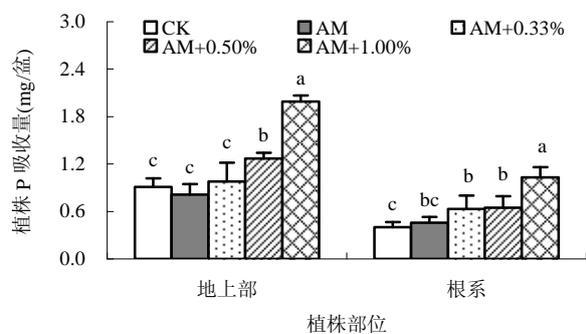


图 2 苏丹草全 P 含量与 P 吸收量

Fig. 2 P content and P-uptake of *Sorghum sudanense*

### 2.3 植株根系磷吸收效率及与 AM 真菌侵染率的关系

不同处理苏丹草地上部与根系全 P 含量及 P 吸收量如图 2 所示。由图 2 可知, 与对照处理相比, 接种 AM 真菌处理植株地上部和根系的全 P 含量和 P 吸收量均没有明显变化, 添加 0.33% 发酵牛粪处理仅根系全 P 含量及 P 吸收量显著提高 ( $p < 0.05$ ), 添加 0.50% 或 1.00% 发酵牛粪处理植株地上部及根系全 P 含量、P 吸收量均显著提高 ( $p < 0.05$ ), 其中添加 1.00% 处理显著高于添加 0.50% 处理 ( $p < 0.05$ ); 结果表明, 接种 AM 真菌基础上添加 1.00% 发酵牛粪处理对植株 P 吸收具有较好促进效果。



苏丹草根系 P 吸收效率及植株 P 吸收总量与根系 AM 真菌侵染率的相关性如图 3 所示。由图 3 可知, 添加发酵牛粪显著提高苏丹草根系 P 吸收效率 ( $p < 0.05$ ), 其中添加 1.00% 处理显著高于添加 0.33% 和 0.50% 两个处理 ( $p < 0.05$ )。由图 3 还可知, 苏丹草植

株 P 吸收总量与根系 AM 真菌侵染率呈显著线性相关 ( $r = 0.741$ ,  $p = 0.009$ ), 表明添加 0.33% ~ 1.00% 发酵牛粪均可以提高苏丹草根系 AM 真菌侵染率, 进而增进植物根系对 P 的吸收, 其中添加 1.00% 发酵牛粪处理苏丹草根系的 P 吸收效率达到仅接种 AM 真菌处理的 1.83 倍。

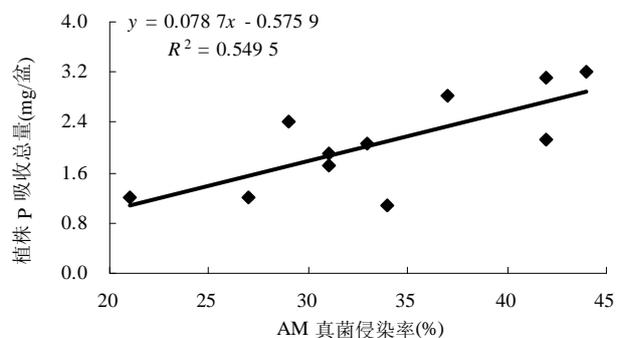
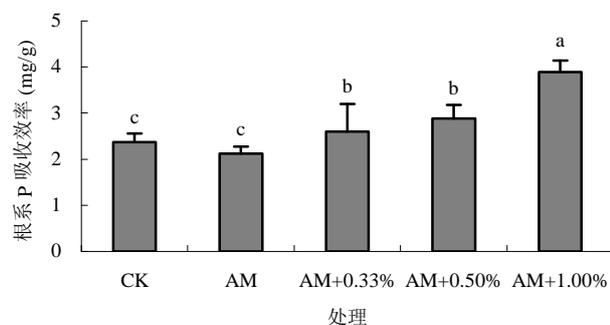


图 3 苏丹草根系 P 吸收效率及植株 P 吸收总量与 AM 真菌侵染率的相关性

Fig. 3 P-uptake efficiency of root and correlation between total P-uptake and AM colonization of *Sorghum sudanense*

### 3 结论与讨论

(1) 接种 AM 真菌会提高苏丹草根冠比, 在此基础上添加适量发酵牛粪可以提高根系 AM 真菌侵染率和土壤孢子密度, 进而增进根系对 P 的吸收, 提高宿主植物生物量。由于 AM 真菌淀积了植物光合产物一定数量的碳<sup>[29]</sup>, 当其对植株生长的促进作用不能弥补植株的碳损失时会造成植株生物量的下降<sup>[23,28,30-31]</sup>, 故此时施肥可以改善土壤性状、增进 AM 真菌侵染、促进 P 等矿质营养吸收, 最终可以提高植株生物量<sup>[28,32-34]</sup>。

(2) 添加不同比例发酵牛粪对灭菌潮土中 AM 真菌生长发育的促进程度不同, 添加 0.33% 或 0.50% 发酵牛粪对土壤孢子密度和根系 AM 真菌侵染率均具有一定促进作用, 而添加 1.00% 发酵牛粪对土壤孢子密度、根系 AM 真菌侵染率和 P 吸收效率的促进效果均达到显著水平, 说明该培养基质中添加 1.00% 或以上的发酵牛粪对苏格兰球囊霉扩繁较为有利, 可以生产出接种势较高且促进养分吸收效果较好的优质 AM 菌剂。

(3) 不同培养基质对 AM 真菌的生长发育具有不同影响<sup>[1,35]</sup>, 不同培养基质中添加发酵牛粪对 AM 真菌繁育和侵染活力等的影响也会有所不同<sup>[36]</sup>。本试验仅以较贫瘠的潮土作为培养基质, 而一般认为过量的肥料会对 AM 真菌的生长发育造成不利影响<sup>[11,37]</sup>, 且发酵牛粪的营养状况也会随着产地和批次变化而产生差异, 其在 AM 真菌扩繁上的应用条件以及培养基质 N/P 与宿主植物 P 吸收效率之间的关系等尚需进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 陈宁, 王幼珊, 蒋家珍, 杨延杰, 林多, 仇宏伟, 张美庆. 培养基质对丛枝菌根(AM)真菌生长发育的影响. 农业工程学报, 2007, 23(9): 205-207
- [2] 殷锡圣, 刘润进, 孙显明. 寄主植物和接种物对丛枝菌根菌接种势的影响. 植物学报, 1997, 39(8): 725-730
- [3] 温莉莉, 梁淑娟, 宋鸽. 丛枝菌根(AM)真菌扩繁方法的研究进展. 东北林业大学学报, 2009, 37(6): 92-96
- [4] 金樑, 赵洪, 李博. 我国菌根研究进展及展望. 应用与环境生物学报, 2004, 10(4): 515-520
- [5] 陈应龙, 弓明钦, 王凤珍, 陈羽. VA 菌根菌剂的生产及其接种潜力的测定. 热带亚热带土壤科学, 1997, 6(2): 113-120
- [6] 杨晓红, 孙中海, 邵菊芳, 仝瑞建. 丛枝菌根真菌培养方法研究进展. 菌物学报, 2004, 23(3): 444-456
- [7] Gaur A, Adholeya A. Effects of the particle size of soil-less substrates upon AM fungus inoculum production. Mycorrhiza, 2000, 10(1): 43-48
- [8] 武术, 林先贵, 施亚琴. 亚铵法造纸废液干粉对绿豆苗根系的 AM 真菌侵染及其地上部生物量的影响. 生态与农村环境学报, 2006, 22(2): 45-48
- [9] 胡君利, 李博, 林先贵, 武术, 王俊华, 王一鸣, 李晶. 双孢菇培养基废料对绿豆生长及 AM 真菌侵染的影响. 生态与农村环境学报, 2008, 24(2): 61-65
- [10] Wang MY, Hu LB, Wang WH, Liu ST, Li M and Liu RJ. Influence of long-term fixed fertilization on diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. Pedosphere, 2009, 19(5): 663-672
- [11] 王淼淼, 徐倩, 刘润进. 长期定位施肥土壤中 AM 真菌对寄主植物的侵染状况. 菌物学报, 2006, 25(1): 131-137
- [12] Muthukumar T, Udaiyan K. Influence of organic manures on arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Vigna unguiculata* (L.) Walp. in relation to tissue nutrients and soluble carbohydrate in roots under field conditions. Biology and Fertility of Soils, 2000, 31: 114-120
- [13] 赵慧敏. 丛枝菌根生理生态学研究进展. 安徽农业科学, 2009, 37(4): 1460-1462
- [14] Hayman DS. Influence of soils and fertility on activity and survival of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Phytopathology, 1982, 72: 1119-1125
- [15] Hu J, Lin X, Wang J, Chu H, Yin R, Zhang J. Population size and specific potential of P-mineralizing and -solubilizing bacteria under long-term P-deficiency fertilization in a sandy loam soil. Pedobiologia, 2009, 53(1): 49-58
- [16] 李秀金, 董仁杰. 粪草堆肥特性的试验研究. 中国农业大学学报, 2002, 7(2): 31-35
- [17] 杨莹, 来航线, 陈雄, 王旭东. 牛粪降解优良菌株的筛选及发酵剂配方的优化. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 35(12): 125-128
- [18] 王林权, 周春菊, 险峰, 李和生, 赵伯善, 康靖全. 鸡粪和奶牛粪对小麦和油菜光合特性的影响. 西北农业大学学报, 1997, 25(6): 41-46
- [19] 李庆康, 张永春, 杨其飞, 杨卓亚, 李延. 生物有机肥肥效机理及应用前景展望. 中国生态农业学报, 2003, 11(2): 78-80
- [20] 丁思年. 有机肥对土壤的改良作用及其发展前景. 现代农业科技, 2007(10): 125, 127
- [21] 张凤侠, 马永建, 彭丽丽, 韩富根. 增施牛粪对烤烟产量及品质的影响. 安徽农业科学, 2008, 36(33): 14652-14654
- [22] 冯锡鸿, 赵金华. 育苗基质中腐熟牛粪用量对番茄、甜瓜幼苗生长的影响. 中国农学通报, 2009, 25(28): 230-232

- [23] 李登武, 王冬梅, 余仲东. AM 真菌与植物共生的生理生化效应研究进展. 西北植物学报, 2002, 22(5): 1 255-1 262
- [24] Philips JM, Hayman DS. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 1970, 55(1): 158-160
- [25] 刘润进, 李晓林. 丛枝菌根及其应用. 北京: 科学出版社, 2000: 1-198
- [26] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999: 296-316
- [27] Zhu YG, Smith FA, Smith SE. Phosphorus efficiencies and responses of barley (*Hordeum vulgare* L.) to arbuscular mycorrhizal fungi grown in highly calcareous soil. Mycorrhiza, 2003, 13: 93-100
- [28] Fitter AH. Costs and benefits of mycorrhizas: Implications for functioning under natural conditions. Experientia, 1997(47): 350-355
- [29] 石伟琦, 夏运生, 刘晓蕾. 丛枝菌根在草原生态系统碳固持中的重要作用. 生态环境, 2008, 17(2): 846-850
- [30] Wright DP, Read DJ, Scholes JD. Mycorrhizal sink strength influences whole plant carbon balance of *Trifolium repens* L.. Plant, Cell and Environment, 1998(21): 881-891
- [31] Bago B, Pfeffer PE, Shachar-Hill Y. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas. Plant Physiology, 2000(124): 949-958
- [32] 黄金芳, 肖华山. VA 菌根的研究进展及应用展望. 安徽农学通报, 2006, 12(2): 26-28
- [33] 王淼焱, 刘树堂, 刘润进. 长期定位施肥土壤中 AM 真菌耐 P 性的比较. 土壤学报, 2006, 43(6): 1 056-1 059
- [34] 苏友波, 林春, 张福锁, 李晓林. 不同 AM 菌根菌分泌的磷酸酶对根际土壤有机磷的影响. 土壤, 2003, 35(4): 334-338
- [35] 龙良鲲, 姚青, 羊宋贞, 朱红惠. 扩繁条件对两种 AMF 菌剂接种势的影响. 微生物学通报, 2007, 34(2): 204-207
- [36] 贺学礼, 李生秀. 泡囊-丛枝菌根生态学研究进展. 干旱地区农业研究, 1996, 14(1): 35-42
- [37] 张旭红, 朱永官, 王幼珊, 林爱军, 陈保冬, 张美庆. 不同施肥处理对丛枝菌根真菌生态分布的影响. 生态学报, 2006, 26(9): 3 081-3 087

## Effects of Fermented Dung on Root Mycorrhizal Colonization and P-uptake Efficiency of *Sorghum Sudanese*

CUI Xiang-chao<sup>1,3</sup>, HU Jun-li<sup>1</sup>, LIN Xian-gui<sup>1</sup>, DAI Jue<sup>1,3</sup>, WANG Rui<sup>1,2</sup>, WANG Jun-hua<sup>1</sup>, WANG Yi-ming<sup>1</sup>

(1 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Joint Open Laboratory of Soil and the Environment, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences and Hong Kong Baptist University, Nanjing 210008, China;

2 College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China;

3 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** A pot experiment in greenhouse was carried out to compare the effects of the application level of fermented dung (0.33%, 0.50% and 1.00%) on soil spore density, root mycorrhizal colonization, plant biomass and root-shoot ratio as well as the P-uptake efficiency of *Sorghum sudanense* grown in a sterilized soil inoculated with arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) *Glomus caledonium*. AMF inoculation tended to decrease aerial biomass of *Sorghum sudanense*, but significantly elevated ( $p < 0.05$ ) the root-shoot ratio. The application of 0.33% and 0.50% fermented dung tended to increase soil spore density, root biomass and mycorrhizal colonization of *Sorghum sudanense*, and significantly increased ( $p < 0.05$ ) the P-uptake efficiency of the root system, while did not alter shoot-root ratio. However, the application of 1.00% fermented dung significantly accelerated ( $p < 0.05$ ) soil spore density, root biomass and mycorrhizal colonization of *Sorghum sudanense* with the same shoot-root ratio and 1.83 times of the P uptake efficiency as much as that inoculated with AMF alone. It suggests that the application of 1.00% fermented dung is the proper level for the propagation of *Glomus caledonium* and the elevation of P-uptake efficiency of *Sorghum sudanense*.

**Key words:** Fermented dung, *Sorghum sudanense*, AM colonization, Soil spore density, Root-shoot ratio, P-uptake efficiency