

DOI: 10.11766/trxb201911090379

刘琛, 郭彬, 林义成, 傅庆林, 李凝玉. 丛枝菌根真菌对金叶六道木镉吸收及根际真菌群落结构的影响[J]. 土壤学报, 2021, 58(2): 495–504.
LIU Chen, GUO Bin, LIN Yicheng, FU Qinglin, LI Ningyu. Impacts of Arbuscular Mycorrhizal Fungus Enhancing *Abelia grandiflora* ‘Francis Mason’ Cd Uptake on Rhizospheric Fungal Communities[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, 58(2): 495–504.

丛枝菌根真菌对金叶六道木镉吸收及根际真菌群落结构的影响*

刘琛, 郭彬, 林义成, 傅庆林[†], 李凝玉

(浙江省农业科学院环境资源与土壤肥料研究所, 杭州 310021)

摘要: 为明确丛枝菌根 (AM) 真菌对促进绿化苗木镉 (Cd) 吸收的影响, 通过盆栽试验比较接种不同 AM 真菌对 12 种绿化苗木 Cd 吸收的差异, 并进一步分析接种对金叶六道木根际微生物数量和 AM 真菌群落结构的影响。结果表明, 12 种绿化苗木, 加 Cd 处理 6 个月后, 其叶片浓度的变化范围为 0.25~2.59 mg·kg⁻¹。接种 AM 真菌处理组的叶片 Cd 含量均高于不接种处理组。相比未接种, 接种 AM2 摩西球囊霉 (BGCAM00164) 后金叶六道木叶片中 Cd 含量增加 147.9%, 故选择金叶六道木进行后续研究。接种 AM2 12 个月后, 金叶六道木的根、枝、叶 Cd 浓度分别为 164.7、22.86 和 10.57 mg·kg⁻¹, 为不接种处理的 2.64 倍、2.06 倍和 1.76 倍, 全株总 Cd 含量达 5 078 μg·株⁻¹, 显著高于不接种对照 (1 745 μg·株⁻¹)。相比不接种对照, 接种 AM2 后降低了转移系数, 将其更多吸收的 Cd 固定在根内, 从而减少对植株的损害。接种 AM 真菌增加了 AM 真菌 PLFA 生物量, 但降低了根际土壤微生物细菌和真菌 PLFA 生物量。所有样本中丰度较高的 AM 真菌为球囊霉科 (Glomus)、类球囊霉科 (Paraglomus) 和原囊霉科 (Archaeospora)。球囊霉科占总 AM 真菌的 55%以上, 是金叶六道木根际的主要优势种群。接种 AM2 后球囊霉丰度显著增加, 由对照的 61.8%上升至 77.4%, 但 AM 真菌的整体多样性和丰富度则表现为下降。接种 AM1 后类球囊霉科丰度显著增加, 由对照的 13.1%上升至 17.8%, 但球囊霉丰度无显著变化。主成分分析结果表明 Cd 和 AM 真菌接种可以改变金叶六道木根际 AM 真菌群落结构。总体而言, 接种 AM 真菌 (摩西球囊霉) 能提高金叶六道木对土壤重金属 Cd 污染的修复效率, 其联合修复技术可扩展 Cd 污染土壤植物修复的应用范围。

关键词: 丛枝菌根真菌; 金叶六道木; 植物修复; 镉; HiSeq 测序

中图分类号: S154.3 **文献标志码:** A

Impacts of Arbuscular Mycorrhizal Fungus Enhancing *Abelia grandiflora* ‘Francis Mason’ Cd Uptake on Rhizospheric Fungal Communities

LIU Chen, GUO Bin, LIN Yicheng, FU Qinglin[†], LI Ningyu

(Institute of Environment, Resource, Soil and Fertilizer, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China)

* 国家重点研发计划项目 (2017YFD0800900) 和浙江省自然科学基金项目 (LQ16D010007) 资助 Supported by the National Key Research and Development Program of China (No. 2017YFD0800900) and the Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China (No. LQ16D010007)

[†] 通讯作者 Corresponding author, E-mail: fuql161@aliyun.com

作者简介: 刘琛 (1984—), 女, 江西萍乡人, 博士, 助理研究员, 主要从事土壤微生物生态与功能研究。Tel: 0571-86409638; E-mail: liuchen@zaas.ac.cn

收稿日期: 2019-11-09; 收到修改稿日期: 2020-02-08; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2020-04-01

Abstract: 【Objective】 As a pollutant element generated from industrial and agricultural activities, cadmium (Cd) has become an intensifying environmental problem throughout the world. In order to investigate effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on green seedling Cd uptake, a pot experiment was conducted. **【Method】** A total of twelve species of green seedlings were planted in the Cd-contaminated pots, separately, with or without AMF inoculation. Particular attention was given to the seedlings of *A. grandiflora*. Effects of inoculation with AMF on population of the microbes and AMF community structure in the rhizosphere of *A. grandiflora* were analyzed using the PLFA and Hiseq techniques. **【Result】** After six months, the twelve species of seedlings ranged from 0.25 to 2.59 mg·kg⁻¹ in leaf Cd concentration, and exhibited an order, excluding *Ligustrum japonicum* ‘Howardii’ and *Eurya emarginata* (Thunb.) Makino, of *Camellia sasanqua* Thunb. < *Osmanthus fragrans* (Thunb.) Lour < *Ligustrum quihoui* < *Ligustrum sinense* ‘Variegatum’ < *Elaeagnus pungens* var. *variegata* Rehd. < *Distylium buxifolium* < *Weigela florida* cv. Red Prince < *Photinia × fraseri* Dress < *Abelia grandiflora* ‘Francis Mason’ < *Weigela florida* cv. *Variegata*. The group inoculated with AMF was obviously higher than their respective ones in the control group without AMF inoculation in leaf Cd concentration. Compared with the control of the same plant, *A. grandiflora* inoculated with AM2 (*Glomus mosseae*, BGCAM00164) was 147.85% higher in leaf Cd concentration, so *A. grandiflora* was designated for investigation in ongoing researches. Twelve months after inoculation with AM2, the plant had Cd concentration in its root, stem and leaf increased up to 164.7, 22.86 and 10.57 mg·kg⁻¹, or 2.64, 2.06 and 1.76 times as high as that in the control, making up a total of 5 078 μg·plant⁻¹, higher than that of the control, which is only 1 745 μg·plant⁻¹. Apparently AM2 reduced the translocation factor and fixed more Cd in the root, thus mitigating Cd damage to the plant. The inoculation of AMF increased PLFA biomass of the AMF, but reduced that of the bacteria and fungi in rhizosphere soil. *Glomus*, *Paraglomus* and *Archaeospora* were the phyla of fungi relatively high in richness in all the samples. *Glomus* accounted for 55% of the total fungal population, and hence the chief dominant group in the rhizosphere of *A. grandiflora*. In treatments AM2, *Glomus* increased significantly from 61.8% to 77.4%, while the AMF community, as a whole, decreased in diversity and richness in the rhizosphere soil, whereas in treatments AM1, *Paraglomus* increased from 13.1% to 17.8%, but *Glomus* did not change much. Principal component analysis shows that the AMF community was altered by Cd contamination and AMF inoculation in the rhizosphere of *A. grandiflora*. **【Conclusion】** Generally speaking, inoculation with *Glomus mosseae* may improve the efficiency of *A. grandiflora* phytoremediating Cd contaminated soils. This type of combined remediation technology can expand the scope of phytoremediation of Cd contaminated soils.

Key words: Arbuscular mycorrhizal fungus (AMF); *Abelia grandiflora* ‘Francis Mason’; Phytoremediation; Cadmium; HiSeq sequencing

2014年《全国土壤污染状况调查公报》显示,我国土壤Cd污染物点位超标率达到7.0%,是主要污染物之一,严重影响作物的产量和品质,危害人体健康^[1-2]。有关Cd污染土壤的治理方法有很多,其中植物修复具有土壤扰动小、原位性、不产生二次污染等优点,是一种优先考虑的环境友好型修复技术^[3]。

丛枝菌根(Arbuscular mycorrhizae, AM)真菌是土壤生态系统中一种同时具有植物根系和微生物特性的互惠共生体^[4-5]。近年来,植物-菌根真菌联合修复已成为当前植物修复研究的热点。一方面菌根真菌对植物修复有直接强化作用,可以促进植物地上部分对重金属转运富集作用以及增强植物根系固持作用^[6]。Liu等^[7]研究结果表明,在50 mg·kg⁻¹ Cd

浓度条件下,接种*Glomus versiforme*后,龙葵根、茎Cd含量可分别增加61%和74%。另一方面可提升植物对重金属胁迫的抗性以及促进相应的解毒及耐受过程,提高植物在重金属污染环境的生存能力及活性,进而对植物修复产生间接强化效应^[8]。Chen等^[9]研究发现,接种AM真菌后可以激发HMA3的表达,将更多的Cd固定在液泡中,从而减少Cd从根系向地上部转移。Li等^[10]发现AM真菌通过改变水稻Cd化学形态和亚细胞分布,使水稻地上部和根系的Cd浓度显著降低,从而增强水稻抗Cd的能力。此外,AM真菌产生的球囊蛋白也可以固定土壤中的Cd,减少有效Cd含量^[11]。AM真菌的作用效果取决于AM真菌种类、植物种类、重金属的浓度及土壤的基本性质^[12-13]。当前关于植物-菌根共生

体的研究主要集中于草本植物, 如龙葵、东南景天等, 而对木本植物的互作研究相对较少。

和超积累植物等草本植物相比, 木本植物具有生物量大、根系发达的特点, 对重金属具有较强的耐性和富集能力, 例如圣栎、杞柳、蓝冰柏等^[14-16]。研究表明, 金丝垂柳 1011 对 Cd 的富集可达到 $231.4 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[17]。绿化苗木修复的关键在于其吸收和转移的 Cd 总量, 利用 AM 真菌促进绿化苗木的吸收, 通过绿化苗木吸收再移栽绿化的方式修复重金属污染土壤, 不仅可解决修复植物残体后续处置的难题, 同时还能在污染土壤上产出客观的经济效益, 对推动土壤污染修复产业化具有重要意义^[18]。

AM 真菌自身就是土壤微生物结构中重要的一部分, 其结构及组成也会受到环境因子、土壤因子和生物因子的影响^[19]。Cd 胁迫会影响 AM 真菌的菌丝长度、代谢活性和功能^[20-21]。接种 AM 真菌也会影响植物的根际分泌, 从而改变土壤微生物种群结构^[22]。土壤中微生物种群通过吸收、固定、吸等方式对土壤中 Cd 的行为起至关重要的作用^[23]。因此, 有必要明确接种丛枝菌根真菌后对绿化苗木根际土壤微生物群落结构的影响。

基于此, 本文拟研究接种 AM 真菌对不同绿化苗木吸收 Cd 的影响, 筛选出最佳组合, 并探索接种 AM 真菌后对绿化苗木根际土壤 AM 真菌群落结构的影响, 明确 AM 真菌促进绿化苗木 Cd 吸收的机理, 以期利用绿化苗木-AM 真菌联合技术修复 Cd 污染土壤提供理论参考。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

收集矿区植物根际土壤混合样品, 经风干后放入塑料袋内。AM 真菌孢子收集用湿筛法。

AM 真菌制备所用土壤是砂土, 使用前 121°C 灭菌 2 h, 48h 后再重复一次, 以灭绝土壤中所有真菌。将湿筛法得到的孢子, 先移入蒸馏水反复清洗, 然后再加入到灭菌土, 充分混匀后装盆。宿主植物使用的是高粱种子。经过 3 个月的生长, 培养基质自然风干后磨碎过筛, 此基质中所含的细根根段、菌丝和孢子作为土著 AM 真菌菌种。自制备的土著 AM 真菌标记为 AMF1, 由北京市农林科学院植物

营养与资源研究所提供的摩西球囊霉真菌标记为 AMF2 (HK01, 1511c001BGCAM0064)。

试验用绿化苗木包括: 金禾女贞 (*Ligustrum quihoui*)、金叶六道木 (*Abelia grandiflora* 'Francis Mason')、茶梅 (*Camellia sasanqua* Thunb.)、金森女贞 (*Ligustrum japonicum* 'Howardii')、小叶蚊母 (*Distylium buxifolium*)、红叶石楠 (*Photinia × fraseri* Dress)、花叶女贞 (*Ligustrum sinense* 'Variegatum')、红王子锦带 (*Weigela florida* cv. Red Prince)、滨柃 (*Eurya emarginata* (Thunb.) Makino)、桂花 (*Osmanthus fragrans* (Thunb.) Lour)、金边胡颓子 (*Elaeagnus pungens* var. variegata Rehd.) 和花叶锦带 (*Weigela florida* cv. Variegata.), 共 12 种。

1.2 试验设计

试验共设置四个处理, 分别为: CK, 不加 Cd; AM0, 加 Cd 和灭活 AMF 菌剂对照; AM1, 加 Cd 和 AMF1; AM2, 加 Cd 和 AMF2。基质由浙江德清加州农业股份有限公司提供, 按前述方法灭菌后按 5% 的接种量 (w:w) 接种灭菌或未灭菌 AM 菌剂。移入绿化苗木, 稳定 1 个月后, 将 $228 \text{ g CdCl}_2\cdot 2.5 \text{ H}_2\text{O}$ 溶解于 3 L 蒸馏水中, 利用注射器均匀打入加 Cd 处理基质对照和加 Cd 处理的基质淋溶液 Cd 浓度分别为 3 和 $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

试验在浙江德清加州农业股份有限公司开展, 培养期为 2017 年 1 月至 12 月, 共计 12 个月。

培养 6 个月时采集所有绿化苗木的叶片, 烘干后测定其 Cd 含量。12 个月后采集金叶六道木的根、叶片及枝条, 烘干后测定其 Cd 含量^[24]。收集金叶六道木的根际基质进行后续分析。

1.3 土壤微生物磷酸脂肪酸组成的分析

采用修正的 Bligh-Dyer 方法, 以甲酯 19:0 做内标, 用 Aligent 6890 气相色谱仪测定, 用 MIDI Sherlock 微生物鉴定系统^[25]。其中脂肪酸 15:0, 17:0, i15:0, i16:0, i17:0, a15:0, a17:0, 16:1 ω 7c, 18:1 ω 7c, cy17:0 和 cy19:0 用于指示细菌 PLFAs, 18:2 ω 6, 9c 用于指示真菌 PLFAs^[26], 16:1 ω 5c 用于指示 AM 真菌 PLFAs^[27]。

1.4 PCR 与测序

对每份土壤样品, 菌根真菌采用一对特异性的引物扩增, 引物序列为: AMV4.5NF (5'-AAG-CTCGTAGTTGAATTCG-3') 和 AMDGR (5'-CCCA-

ACTATCCCTATTAATCAT-3')^[28]。体系为 25 μL ，包括 12.5 μL Buffer ($2\times$)、2 μL dNTP、5 μL DNA 模板 (20 ng)、正反引物各 1 μL ($10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 3.5 μL 的灭菌双蒸水。阴性对照用灭菌双蒸水代替 DNA 作为反应模板。反应程序为：95 $^{\circ}\text{C}$ 10 min；95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s，60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s，72 $^{\circ}\text{C}$ 30s，40 循环。上述 PCR 产物纯化后由天昊生物科技股份有限公司利用 Illumina HiSeq 测序平台完成测序。

1.5 数据分析

生物转移系数 (translocation factor, TF) = $C_{\text{地上部}}/C_{\text{根}}$ 。式中， $C_{\text{地上部}}$ 表示地上部分的重金属含量， $C_{\text{根}}$ 表示地下部分的重金属含量。

对于下机的测序数据，进行拼接、质控和嵌合体过滤，得到可用于后续分析的有效数据。使用 UPARSE 去除 singleton 序列，同时使用 denovo 模式去除嵌合体序列，最终产生用于物种分类的操作分类单元 (Operational Taxonomic Unit, OTU)。使用 qiime 软件，找出与 OTU 序列相似度最高且可信度达 80% 以上的物种信息用于 OTU 的注释。应用软件 mothur (<http://www.mothur.org/>) 计算香农指数、Chao 1 指数和覆盖率指数 (good's coverage)。根据 OUT 分布情况，进行聚类分析 (principal

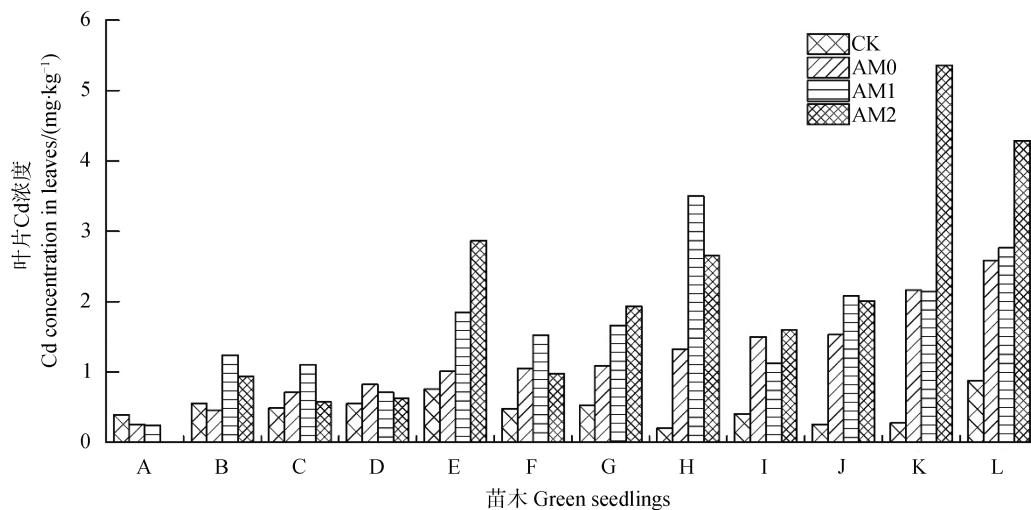
co-ordinates analysis, PCoA)。

所有结果用平均数 \pm 标准偏差表示。利用 SPSS 22.0 统计软件对结果进行单因素方差分析，并利用 Tukey 法检验同一因素下各处理间差异的显著性。

2 结果

2.1 不同苗木对 Cd 的吸收

如图 1 所示，加 Cd 后，12 种绿化苗木叶片浓度变化范围为 0.25~2.59 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。与对照相比，加 Cd 对金森女贞和滨柃影响不显著。其余十种绿化苗木叶片 Cd 含量由小到大顺序为：茶梅、桂花、金禾女贞、花叶女贞、金边胡颓子、小叶蚊母、红王子锦带、红叶石楠、金叶六道木、花叶锦带。花叶锦带叶片 Cd 浓度最高，为 2.59 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，其次为金叶六道木，叶片 Cd 浓度为 2.16 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。除桂花和滨柃外，接种 AM 真菌处理组的叶片 Cd 含量均高于不接种处理组，接种 AM 真菌后显著增加了植物叶片 Cd 含量。相比未接种对照，接种 AM2 后金叶六道木叶片中 Cd 含量增加了 147.9%。表明金叶六道木对土壤重金属 Cd 具有较好吸收和富集能力，可以作为土壤 Cd 污染修复的优良绿化苗木。



注：A：滨柃；B：金森女贞；C：茶梅；D：桂花；E：金禾女贞；F：花叶女贞；G：金边胡颓子；H：小叶蚊母；I：红王子锦带；J：红叶石楠；K：金叶六道木；L：花叶锦带。Note: A, *Eurya emarginata* (Thunb.) Makino; B, *Ligustrum japonicum* 'Howardii'; C, *Camellia sasanqua* Thunb.; D, *Osmanthus fragrans* (Thunb.) Lour; E, *Ligustrum quihoui*; F, *Ligustrum sinense* 'Variegatum'; G, *Elaeagnus pungens* var. *variegata* Rehd.; H, *Distylium buxifolium*; I, *Weigela florida* cv. Red Prince; J, *Photinia* \times *fraseri* Dress; K, *Abelia grandiflora* 'Francis Mason'; L, *Weigela florida* cv. *Variegata*.

图 1 不同绿化苗木叶片 Cd 浓度 (6 个月)

Fig. 1 Cd concentration in leaves of green seedlings (6 months) relative to species

表 1 培养 12 个月金叶六道木不同部位 Cd 浓度与含量

Table 1 Cd concentration and contents in different parts of *A. grandiflora* (12 months)

处理 Treatment	根 Cd 浓度 Cd concentration in roots/ (mg·kg ⁻¹)	茎 Cd 浓度 Cd concentration in stems/ (mg·kg ⁻¹)	叶片 Cd 浓度 Cd concentration in leaves/ (mg·kg ⁻¹)	根 Cd 总含量 Cd content in roots/ (μg·plant ⁻¹)	植株 Cd 总含量 Cd content in plant/ (μg·plant ⁻¹)	生物转移系数 TF
CK	3.05±0.46c	0.26±0.10d	0.23±0.04c	79.82±10.16c	81.13±11.68c	0.08±0.02b
AM0	62.27±21.46b	11.10±0.91c	6.01±0.65b	1459±416b	1745±424b	0.21±0.06a
AM1	68.01±18.07b	14.10±0.48b	5.53±0.60b	2026±241b	2353±249b	0.16±0.02ab
AM2	164.7±12.20a	22.86±1.66a	10.57±0.65a	4599±174a	5078±164a	0.10±0.01b

由表 1 可知, 种植 12 个月后, AM0 处理金叶六道木根、枝、叶片 Cd 浓度分别为 62.27、11.10 和 6.01 mg·kg⁻¹。叶片 Cd 浓度增加为 6 个月前的 2.78 倍。添加 AM2 菌剂后, 金叶六道木对 Cd 的吸收显著增加, 根、茎、叶 Cd 浓度分别为 164.7、22.86 和 10.57 mg·kg⁻¹, 为 AM0 处理的 2.64 倍、2.06 倍和 1.76 倍, 说明添加丛枝菌根真菌后可以增加金叶六道木对 Cd 的吸收。Cd 胁迫条件下, 金叶六道木地上部和全株 Cd 含量分别为 1 459 和 1 745 μg·株⁻¹, 转移系数为 0.21。接种 AM2 后, 金叶六道木体内 Cd 含量为 5 078 μg·株⁻¹, 其转移系数为 0.10, 说明接种 AM 真菌后可以降低转移系数, 并将其更

多吸收的 Cd 固定在根内。

2.2 接种 AM 真菌对金叶六道木根际土壤微生物生物量的影响

Cd 胁迫条件下, 土壤中总 PLFA 生物量、细菌 PLFA 生物量、真菌 PLFA 生物量分别为 101.7、32.91 和 5.60 nmol·g⁻¹ (见表 2), 显著高于对照。这说明 Cd 在一定的浓度范围内可刺激根际土壤微生物数量增加。与不接菌相比, 接种 AM 真菌降低了六道木根际土壤微生物总 PLFA 生物量、细菌 PLFA 生物量及真菌 PLFA 生物量, 但增加了 AM 真菌 PLFA 生物量。AM1 和 AM2 处理间总 PLFA 生物量、细菌 PLFA 生物量和 AM 真菌 PLFA 生物量差异不显著。

表 2 金叶六道木根际土壤微生物 PLFA 量

Table 2 PLFA biomass of microorganisms in the rhizosphere soil of *A. grandiflora*

处理 Treatment	总 PLFA 生物量 Total PLFA biomass/ (nmol·g ⁻¹)	细菌 PLFA 生物量 Bacterial PLFA biomass/ (nmol·g ⁻¹)	真菌 PLFA 生物量 Fungal PLFA biomass/ (nmol·g ⁻¹)	AM 真菌 PLFA 生物量 Arbuscular mycorrhizal fungi PLFA biomass/(nmol·g ⁻¹)
CK	64.98±3.47 c	19.13±0.87 c	3.16±0.31 c	1.19±0.15 b
AM0	101.7±2.5 a	32.91±2.43 a	5.60±0.12 a	1.67±0.11 b
AM1	85.47±3.44 b	26.36±2.12 b	3.76±0.03 b	3.85±0.26 a
AM2	85.77±5.46 b	25.66±1.42 b	3.05±0.11 c	4.17±0.15 a

2.3 根际土壤微生物群落结构

表 3 为高通量测序优质序列的分布结果, 各样品测序量在 97 411 条至 119 212 条之间, 优质序列占有有效序列的 98 % 以上。序列长度集中分布在 212~218 bp 之间, 平均长度 222 bp。四个处理用于物种分类的 OTUs, 分别为 365、357、347、311, 其中 CK 处理的 OTU 数最高, 但与其他处理间差异

不显著。在对照样品中香农指数最低, 为 2.79; Cd 胁迫下后增加了金叶六道木根际 AM 真菌香农指数, 接种 AM1 和 AM2 后香农指数分别为 2.92 和 3.21。Cd 胁迫对根际 AM 真菌 Chao1 指数的影响不显著, 接种 AM1 和 AM2 后丰富度下降, 特别是接种 AM2, 下降幅度达 21%。不同样品间的覆盖率指数差异不显著。

表 3 AM 真菌的丰度、多样性指数及丰富度指数

Table 3 Abundances, Diversity and Richness indexes of AMF

处理	优质序列	OTU	Chao1 指数	香农指数	覆盖率指数
Treatment	High quality sequence		Chao1 index	Shannon index	Good's coverage
CK	119 212±11 138	365±53	442±35	2.79±0.27	0.999
AM0	115 534±16 046	357±25	445±47	3.31±0.18	0.999
AM1	97 411±10 570	347±12	416±2	2.92±0.34	0.999
AM2	103 126±6 157	311±78	351±82	3.21±0.58	0.999

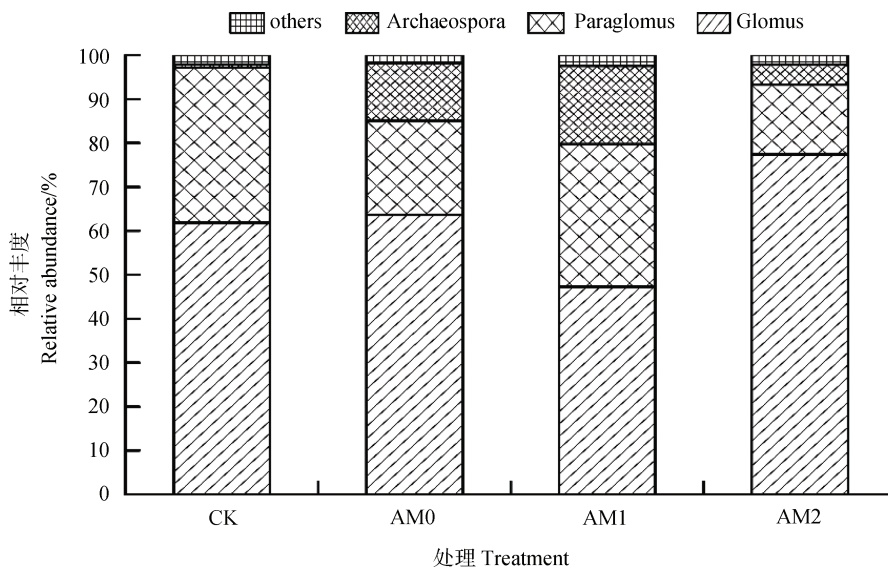


图 2 群落结构组成

Fig. 2 AMF community structure

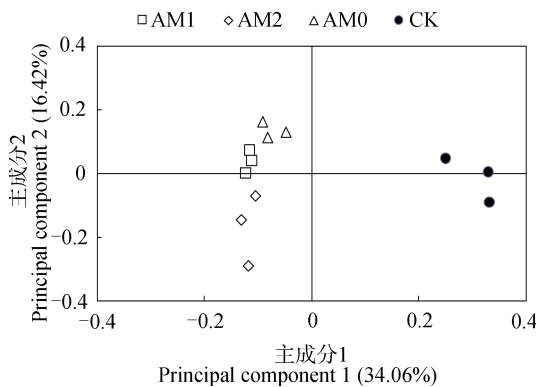


图 3 主成分分析图

Fig. 3 Principal component analysis

从群落结构组成图(图 2)可以看出,所有样本中的 AM 真菌主要分属于三个科,分别是球囊霉科(Glomus)、类球囊霉科(Paraglomus)和原囊霉科(Archaeospora)。其中球囊霉科占总 AM 真菌的 55%以上,占绝对优势。在不同处理间,球囊霉科

和类球囊霉科的相对丰度具有显著变化。Cd 胁迫条件降低了类球囊霉的丰度,增加了原囊霉科的丰度。相比未接菌,接种 AM2 后球囊霉科丰度显著增加,由 63.7%上升至 77.4%。接种 AM1 后类球囊霉科丰度显著增加,由对照的 13.1%上升至 17.8%。主成分分析结果显示(图 3),Cd 胁迫会显著影响植物根际真菌群落结构。2 个主成分的贡献率分别为 34.06%和 16.42%,累计贡献率为 50.48%。主成分 1 可以区分加 Cd 处理组和对照组,主成分 2 可以区分接种 AM2 和不接菌处理。因此,Cd 和 AM 真菌接种可以改变金叶六道木根际 AM 真菌群落结构。

3 讨论

Cd 胁迫条件下,花叶锦带和金叶六道木叶片 Cd 浓度分别为 2.59 和 2.16 mg·kg⁻¹。考虑到花叶锦

带属于落叶灌木, 故选择属于常绿灌木的金叶六道木作为后期研究的对象。本试验中由于采用基质培养, 基质具有强大的缓冲性, 添加 Cd 溶液 $150 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 后, 其基质淋溶液 Cd 浓度为 $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 相当于一般试验中土壤中 Cd 添加量为 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。目前, 国内外发现的 Cd 超积累植物有 17 种, 主要为草本植物, 而超积累植物生长缓慢、生物量低^[29]。比如, 当 Cd 浓度为 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 杂草龙葵的茎、叶中 Cd 浓度分别为 121.16 、 $118.23 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 但每株龙葵的 Cd 含量仅为 $14.61 \mu\text{g}$ ^[7]; 东南景天的茎、叶中 Cd 浓度分别高达 1750 、 $500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 总 Cd 含量小于 $1000 \mu\text{g}\cdot\text{盆}^{-1}$ ^[30]。本试验中, 种植 12 个月后, 金叶六道木的根、茎、叶 Cd 浓度分别为 62.27 、 11.10 和 $6.01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 植株体内总 Cd 含量达 $1745 \mu\text{g}\cdot\text{株}^{-1}$, 远高于龙葵和东南景天, 表现出了良好的 Cd 修复能力。相比于其他修复植物后期处理的风险, 绿化苗木可以通过移栽, 将固定的 Cd 进行转移并实现绿化功能。移栽 3 个月后苗木所吸收的 Cd 仍主要固定于体内, 移栽后 Cd 释放的风险较小, 是一种环境友好的修复技术^[16]。当然, 被移栽的地点需要慎重选择, 以避免带来新的风险^[31]。研究结果显示, 金叶六道木根系吸收的 Cd 含量占总植物体的 78%~93%, 而植物根系却难以从土壤中收集。今后可以研发合适的技术将植株体连同根系一起收获, 以保证植物提取修复效率, 同时可预防二次污染的发生。

提高植物的修效率, 探讨植物修复的强化措施对于植物修复的应用仍显得尤为重要。接种 AM 真菌后, 金禾女贞、小叶蚊母、金叶六道木等 10 种苗木叶片 Cd 含量均显著增加, 其中增幅最大的为金叶六道木, 为未接种的 2.47 倍。12 个月后, 接种 AM2 处理金叶六道木根、茎、叶 Cd 浓度分别为不接种处理的 2.64 倍、2.06 倍和 1.76 倍。上述结果表明, AM 真菌可促进植物对 Cd 的吸收。其他学者也发现了类似的结果。Liu 等^[7]研究发现, 接种 AM 真菌后龙葵枝和根的吸收量分别为 131.79 和 $51.42 \mu\text{g}\cdot\text{盆}^{-1}$, 远高于未接种的 51.30 和 $21.76 \mu\text{g}\cdot\text{盆}^{-1}$ 。陈良华等^[32]研究结果表明接种 AM 真菌引起美洲黑杨雄株叶片、茎、粗根、细根 Cd 积累量及总积累量分别增加 85%、53%、81%、236% 和 160%, 显著提高美洲黑杨 Cd 积累能力。在本研究中, Cd 在金叶六道木地上部枝叶内浓度较低, 根系内浓度相对较高, 接

种 AM2 后降低了转移系数, 降低了 Cd 转运至地上部的比例, 增加了根系对 Cd 的富集能力, 从而减少了 Cd 对茎叶的毒害作用, 增强了植物根系 Cd 的固持作用, 进一步强化了金叶六道木对 Cd 修复的效率。宁楚涵等^[33]研究结果也表明, 相比对照, 接种摩西斗管囊霉抑制了芦苇和狼尾草根 Cd 向地上部的转移作用, 增加了根系对 Cd 的富集能力, 减少了 Cd 对植物茎叶的毒害作用。

在本研究中, 不同苗木品种对 AM 真菌也表现出不同的偏好性。对于金叶六道木而言接种 AM2 的强化效果优于接种 AM1; 而红叶石楠和小叶蚊母则相反。陈雪等^[34]研究发现, 相比异形根孢囊霉, 接种摩西管柄囊霉对龙葵 Cd 富集系数的效应最大。杨秀敏等^[35]的研究表明, 相比摩西管柄囊霉, 接种根内球囊霉对东南景天 Cd 提取量增加效果更优。因此, 有必要针对不同的修复植物, 筛选与培育最佳的植物-AM 真菌联合修复的组合。

研究发现利用外源加入有益微生物, 对 Cd 胁迫下土壤根际环境有一定的改善作用。杜俊卿^[36]发现接种丛植菌根能增加大叶女贞、法国冬青等绿化植株土壤中细菌、真菌、放线菌的数量。但在本研究中, 接种 AM 真菌后细菌 PLFA 生物量、真菌 PLFA 生物量、微生物总 PLFA 生物量反而下降。这可能是由于苗木种植所采用的基质均预先灭菌过, 所接种菌种与新生微生物产生了竞争关系。结果显示, 相比不接种处理, 接种 AM2 后, AM 真菌 PLFA 生物量显著增加, 但 AM 真菌的群落多样性、丰富度却下降, 意味土壤 AM 真菌群落中优势种的相对比例增加, 群落向着更加集中的方向发展。Martínez-García 等^[37]观察到在宿主植物根际中的 AM 真菌群落多样性远低于土壤中的 AM 真菌群落多样。

群落结构分析结果表明, 金叶六道木根际的主要 AM 真菌分别为球囊霉科 (Glomeraceae)、类球囊霉科 (Paraglomeraceae) 和原囊霉科 (Archaeosporaceae), 其中球囊霉科占总 AM 真菌的 55% 以上, 是绝对优势种群。该结果与 Sun^[38]、Wei^[39]等的研究结论相一致。相关性分析结果显示, 土壤 Cd 含量与球囊霉科含量呈显著正相关 ($R^2=0.786$, $P<0.05$)。与其他种属相比, 球囊霉的产孢速度更快, 也更能适应于胁迫环境。但 Schneider 等^[40]则发现在巴西一处金矿土壤中主要的 AM 真菌为类球囊

霉、无梗囊霉和球囊霉。这说明不同生境条件下,土壤中 AM 真菌群落结构并不完全相同。AM 真菌在植株根际定植成功,形成的共生结构使植物受益,反之植物也会选择对其有益的 AM 真菌^[41]。因此,在应对 Cd 胁迫时接种球囊霉将较类球囊霉对金叶六道木产生更大的益处,这也正是接种 AM1 后类球囊霉科增加对金叶六道木的促吸收效果不明显的原因。

4 结论

通过苗木筛选,发现金叶六道木对土壤重金属 Cd 具有较好吸收和富集能力。种植 12 个月,植株体总 Cd 含量达 1745.46 $\mu\text{g}\cdot\text{株}^{-1}$ 。Cd 胁迫条件下,接种 AM2 (摩西球囊霉)后,金叶六道木根、茎和叶 Cd 浓度分别为不接菌处理的 2.64 倍、2.06 倍和 1.76 倍。接种 AM 真菌后根际土壤 AM 真菌 PLFA 生物量增加,AM 真菌群落多样性和丰富度下降,群落向着优势种球囊霉科更加集中的方向发展。AM 真菌强化了金叶六道木对土壤 Cd 的吸收和修复能力,其联合修复技术可扩展 Cd 污染土壤植物修复的应用范围。

参考文献 (References)

- [1] Ministry of Environmental Protection, Ministry of Land and Resources. National soil pollution survey Bulletin[J]. National Land & Resources Information, 2014 (8): 26—29. [环境保护部,国土资源部.全国土壤污染状况调查公报[J].国土资源通讯,2014(8):26—29.]
- [2] Satarug S, Vesey D A, Gobe G C. Current health risk assessment practice for dietary cadmium: Data from different countries[J]. Food and Chemical Toxicology, 2017, 106: 430—445.
- [3] Tang X, Li Q, Wu M, et al. Review of remediation practices regarding cadmium-enriched farmland soil with particular reference to China[J]. Journal of Environmental Management, 2016, 181: 646—662.
- [4] Chen B D, Sun Y Q, Zhang X, et al. Underlying mechanisms of the heavy metal tolerance of mycorrhizal fungi[J]. Environmental Science, 2015, 36 (3): 1123—1132. [陈保冬,孙玉青,张莘,等.菌根真菌重金属耐性机制研究进展[J].环境科学,2015,36(3):1123—1132.]
- [5] Zu Y Q, Lu X, Zhan F D, et al. A review on roles and mechanisms of arbuscular mycorrhizal fungi in phytoremediation of heavy metals-polluted soils[J]. Plant Physiology Journal, 2015, 51 (10): 1538—1548. [祖艳群,卢鑫,湛方栋,等.丛枝菌根真菌在土壤重金属污染植物修复中的作用及机理研究进展[J].植物生理学报,2015,51(10):1538—1548.]
- [6] Chen B D, Yu M, Hao Z P, et al. Research progress in arbuscular mycorrhizal technology[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30 (3): 1035—1046. [陈保冬,于萌,郝志鹏,等.丛枝菌根真菌应用技术研究进展[J].应用生态学报,2019,30(3):1035—1046.]
- [7] Liu H, Yuan M, Tan S Y, et al. Enhancement of arbuscular mycorrhizal fungus (*Glomus versiforme*) on the growth and Cd uptake by Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum*[J]. Applied Soil Ecology, 2015, 89: 44—49.
- [8] Wu J T, Yang D G, Wang L, et al. Remediation of heavy-metal contaminated soil by plant-mycorrhizal fungal combinations[J]. Microbiology China, 2018, 45 (11): 2503—2516. [吴洁婷,杨东广,王立,等.植物-菌根真菌联合修复重金属污染土壤[J].微生物学通报,2018,45(11):2503—2516.]
- [9] Chen X W, Wu L, Luo N, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi and the associated bacterial community influence the uptake of cadmium in rice[J]. Geoderma, 2019, 337: 749—757.
- [10] Li H, Luo N, Li Y W, et al. Cadmium in rice: Transport mechanisms, influencing factors, and minimizing measures[J]. Environmental Pollution, 2017, 224: 622—630.
- [11] Wu Z P, McGrouther K, Huang J D, et al. Decomposition and the contribution of glomalin-related soil protein (GRSP) in heavy metal sequestration: Field experiment[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2014, 68: 283—290.
- [12] Audet P, Charest C. Dynamics of arbuscular mycorrhizal symbiosis in heavy metal phytoremediation: Meta-analytical and conceptual perspectives[J]. Environmental Pollution, 2007, 147 (3): 609—614.
- [13] Hontoria C, García-González I, Quemada M, et al. The cover crop determines the AMF community composition in soil and in roots of maize after a ten-year continuous crop rotation[J]. Science of the Total Environment, 2019, 660: 913—922.
- [14] Gao Z T, Niu X Y, Zhou J, et al. Effects of *Sailx integra* planting on microbial community structure and physical and chemical properties during cadmium contaminated soil remediation[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2019, 25 (3): 501—509. [高卓田,牛小云,周健,等.种植杞柳在镉污染土壤修复过程中对土壤微生物群落结构和理化性质的影响[J].应用与环境生物学报,2019,25(3):501—509.]
- [15] Yang Y, Wang G M. Poplar response to Cd stress and its resistance mechanism[J]. World Forestry Research,

- 2017, 30 (4): 29—34. [杨园, 王良梅. 杨树对镉胁迫的响应及抗性机制研究进展[J]. 世界林业研究, 2017, 30 (4): 29—34.]
- [16] Guo B, Liang Y C, Fu Q L, et al. Cadmium stabilization with nursery stocks through transplantation: A new approach to phytoremediation[J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, 199/200: 233—239.
- [17] Xie T C, Wang G B, Yin Y, et al. Interaction effects on uptake and toxicity of cadmium and pyrene in wellows from co-contaminated soil[J]. Journal of Nanjing University: Natural Science, 2019, 55 (2): 282—290. [谢探春, 王国兵, 尹颖, 等. 柳树对镉-芘复合污染土壤的修复潜力与耐受性研究[J]. 南京大学学报: 自然科学, 2019, 55 (2): 282—290.]
- [18] Yang R Q, Yang X M, Shen C. Comparison of the absorption ability of heavy metal pollutants in the atmosphere between 21 landscape plants[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2016, 44 (8): 515—518. [杨瑞卿, 杨学民, 申晨. 21 种园林植物对大气重金属污染物的吸收能力比较[J]. 江苏农业科学, 2016, 44 (8): 515—518.]
- [19] Yang W Y, Sun L Y, Song F B, et al. Research advances in species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in terrestrial agro-ecosystem[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30 (11): 3971—3979. [杨文莹, 孙露莹, 宋凤斌, 等. 陆地农业生态系统丛枝菌根真菌物种多样性研究进展[J]. 应用生态学报, 2019, 30 (11): 3971—3979.]
- [20] Gai J P, Fan J Q, Zhang S B, et al. Direct effects of soil cadmium on the growth and activity of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Rhizosphere, 2018, 7: 43—48.
- [21] Li Y, Peng J, Shi P, et al. The effect of Cd on mycorrhizal development and enzyme activity of *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* in *Astragalus sinicus* L.[J]. Chemosphere, 2009, 75 (7): 894—899.
- [22] Lioussanne L, Perreault F, Jolicoeur M, et al. The bacterial community of tomato rhizosphere is modified by inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi but unaffected by soil enrichment with mycorrhizal root exudates or inoculation with *Phytophthora nicotianae*[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2010, 42 (3): 473—483.
- [23] Vodyanitskii Y N, Plekhanova I O. Biogeochemistry of heavy metals in contaminated excessively moistened soils (Analytical review) [J]. Eurasian Soil Science, 2014, 47 (3): 153—161.
- [24] Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000. [鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.]
- [25] Liu C, Ding N F, Fu Q L, et al. The influence of soil properties on the size and structure of bacterial and fungal communities along a paddy soil chronosequence[J]. European Journal of Soil Biology, 2016, 76: 9—18.
- [26] Frostegård Å, Tunlid A, Bååth E. Use and misuse of PLFA measurements in soils[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2011, 43 (8): 1621—1625.
- [27] Olsson P A, Bååth E, Jakobsen I, et al. The use of phospholipid and neutral lipid fatty acids to estimate biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in soil[J]. Mycological Research, 1995, 99 (5): 623—629.
- [28] van Geel M, Busschaert P, Honnay O, et al. Evaluation of six primer pairs targeting the nuclear rRNA operon for characterization of arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities using 454 pyrosequencing[J]. Journal of Microbiological Methods, 2014, 106: 93—100.
- [29] Zeng C Z, Yan M L, Liu Z X. Heavy metal hyperaccumulator plants and their evolution: facts and controversies[J]. Plant Physiology Journal, 2019, 55(8): 1063—1074. [曾超珍, 严明理, 刘志祥. 重金属超积累植物及其进化: 事实与争议[J]. 植物生理学报, 2019, 55 (8): 1063—1074.]
- [30] Guo J K, Lv X, Jia H L, et al. Effects of EDTA and plant growth-promoting rhizobacteria on plant growth and heavy metal uptake of hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance[J]. Journal of Environmental Sciences, 2020, 88: 361—369.
- [31] Luo J, Cai L M, Qi S H, et al. Heavy metal remediation with *Ficus microcarpa* through transplantation and its environmental risks through field scale experiment[J]. Chemosphere, 2018, 193: 244—250.
- [32] Chen L H, Hu X W, Yang W Q, et al. Effects of arbuscular mycorrhizae fungi inoculation on absorption of Pb and Cd in females and males of *Populus deltoides* when exposed to Pb and Cd pollution[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2017, 37 (1): 308—317. [陈良华, 胡相伟, 杨万勤, 等. 接种丛枝菌根真菌对雌雄美洲黑杨吸收铅镉的影响[J]. 环境科学学报, 2017, 37 (1): 308—317.]
- [33] Ning C H, Li W B, Xu Q K, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance cadmium uptake of wetland plants in contaminated water[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30 (6): 2063—2071. [宁楚涵, 李文彬, 徐启凯, 等. 丛枝菌根真菌促进湿地植物对污染水体中镉的吸收[J]. 应用生态学报, 2019, 30 (6): 2063—2071.]
- [34] Chen X, Zheng Z X, Shi Q, et al. Effect of AMF and plants on accumulation of Pb and Cd in soil[J]. Journal of Fungal Research, 2017, 15 (1): 33—38, 52. [陈雪, 郑志鑫, 石青, 等. AMF 和植物富集土壤中铅和镉的效应[J]. 菌物研究, 2017, 15 (1): 33—38, 52.]
- [35] Yang X M, Tang G Z, Pan Y, et al. Effects of arbuscular mycorrhizals on growth and heavy metal uptake of *Sedum alfredii*[J]. Metal Mine, 2017(12): 163—168. [杨秀敏,

- 唐国忠, 潘宇, 等. 菌根对东南景天生长和吸收重金属的影响[J]. 金属矿山, 2017 (12): 163—168.]
- [36] Du J Q. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on Rhizosphere microenvironment of different greening plants[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45 (18): 149—152. [杜俊卿. 接种丛枝菌根真菌对不同绿化植物根际微环境的影响[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(18): 149—152.]
- [37] Martínez-García L B, Armas C, de Dios Miranda J, et al. Shrubs influence arbuscular mycorrhizal fungi communities in a semi-arid environment[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2011, 43 (3): 682—689.
- [38] Sun Y Q, Zhang X, Wu Z X, et al. The molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the arsenic mining impacted sites in Hunan Province of China[J]. Journal of Environmental Sciences, 2016, 39: 110—118.
- [39] Wei Y, Chen Z P, Wu F C, et al. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi at a large-scale antimony mining area in Southern China[J]. Journal of Environmental Sciences, 2015, 29: 18—26.
- [40] Schneider J, Stürmer S L, Guilherme L R G, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi in arsenic-contaminated areas in Brazil[J]. Journal of Hazardous Materials, 2013, 262: 1105—1115.
- [41] Alguacil M M, Torrecillas E, Caravaca F, et al. The application of an organic amendment modifies the arbuscular mycorrhizal fungal communities colonizing native seedlings grown in a heavy-metal-polluted soil[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2011, 43(7): 1498—1508.

(责任编辑: 卢 萍)