

丛枝菌根真菌物种多样性研究进展

刘敏¹ 峥嵘^{1,2} 白淑兰^{1*} 王琺钢¹ 李龙³ 段国珍¹

(1. 内蒙古农业大学林学院 内蒙古 呼和浩特 010019)

(2. 内蒙古师范大学生命科学与技术学院 内蒙古 呼和浩特 010022)

(3. 阿拉善林业研究所 内蒙古 巴彦浩特 750306)

摘要: 丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)在不同生态系统均发挥至关重要的作用, 研究其多样性能够为 AMF 物种资源的保护和利用提供科学依据。AMF 不能被离体纯培养以及自身的高变异性等因素严重阻碍了对其进行深入研究, 随着研究方法的不断改进, 尤其是新一代测序技术的运用, 极大加速了人们对 AMF 物种多样性的认识。本文主要从 AMF 分类系统、不同宿主植物和不同生境中的 AMF 物种多样性及 AMF 物种多样性研究方法(包括形态鉴定、Sanger 测序和高通量测序)方面介绍 AMF 物种多样性研究进展, 并且探讨 AMF 物种多样性研究中存在的主要问题, 认为在今后 AMF 物种多样性研究中不仅要注重运用新的研究手段, 还应该着重解决 AMF 不能离体纯培养的问题。

关键词: 丛枝菌根真菌, 物种多样性, 形态鉴定, Sanger 测序, 高通量测序

Advances of species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi

LIU Min¹ ZHENG Rong^{1,2} BAI Shu-Lan^{1*} WANG Ju-Gang¹ LI Long³
DUAN Guo-Zhen¹

(1. College of Forestry, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010019, China)

(2. College of Life Science and Technology, Inner Mongolia Normal University, Hohhot, Inner Mongolia 010022, China)

(3. Alxa League Institute of Forestry, Bayanhot, Inner Mongolia 750306, China)

Abstract: Arbuscular mycorrhizal fungi play important roles in different ecosystems of the world, to understand the species diversity of AMF could provide scientific basics for conservation and utilization of species resources, while the unculturable nature and higher genetic variability of AMF severely hampered the further advances of AMF. With the developing of research methods and application of the next-generation sequencing technology, it could reveal deeper insights into the AMF species diversity. This paper reviewed the advances in AMF classification systems, AMF species diversity in different host plants and habitats, and research methods (including morphological identification, Sanger sequencing and high throughput sequencing) of AMF species diversity and main problems that

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 31360125); Graduate Students Research Innovation Fund of Inner Mongolia

*Corresponding author: E-mail: baishulan2004@163.com

Received: August 19, 2015; **Accepted:** October 15, 2015; **Published online** (www.cnki.net): December 11, 2015

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31360125); 内蒙古自治区研究生科研创新基金项目

*通讯作者: E-mail: baishulan2004@163.com

收稿日期: 2015-08-19; 接受日期: 2015-10-15; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-12-11

occurred in the study of AMF species diversity were also discussed. It was considered that not only new research technologies should be applied to study AMF species diversity in the future, but also the problem of unculturable nature of AMF should be concerned.

Keywords: Arbuscular mycorrhizal fungi, Species diversity, Morphological identification, Sanger sequencing, High throughput sequencing

丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)能与大多数陆生植物根系形成菌根共生体, 占土壤微生物总生物量的 10%以上^[1]。AMF 从宿主植物获得碳水化合物, 同时为植物带来一系列好处: 如促进宿主植物对养分的吸收, 尤其是磷^[2]; 促进植物的生长; 提高植物对于旱、重金属和盐碱的耐受性; 还能增强土壤的稳定性与保水性^[3]。此外, AMF 的存在及多样性是影响植物群落结构、多样性和生产力的主要决定因素^[4], 尤其是在退化生态系统中, AMF 在植被恢复及重建过程中发挥着至关重要的作用。鉴于 AMF 具有重要的生理生态功能, 并且在生态系统, 尤其是退化生态系统中发挥的巨大作用, 研究其物种多样性能为 AMF 物种资源的保护和利用奠定科学基础。本文主要综述了近年来 AMF 物种多样性研究进展, 并探讨了当前 AMF 物种多样性研究中存在的主要问题及今后的研究方向, 希望能够为研究者提供必要参考。

1 AMF 分类系统

化石证据显示, AMF 大约起源于 4 亿年前^[5], Tulasne 兄弟^[6]首次依据孢子形态对 *Glomus* 属及属中的两个种 (*Glomus microcarpum* 和 *G. macrocarpum*)进行了描述, 此后 Gerdemnn 和 Trappe (1974)^[7]、Morton 和 Benny (1990)^[8]、Schüßler 等 (2001)^[9]、Walker 等(2007)^[10]、Schüßler 等(2010)^[11]、Oehl 等(2011)^[12]、Redecker 等(2013)^[13]分别对 AMF 分类系统进行了修订。依据最新的分类系统^[11,13]和网络上公布的详细 AMF 分类列表 (<http://schuessler.userweb.mwn.de/amphylo/>, 2013.11), 将 AMF 分为 1 纲 4 目 11 科 25 属 259 种(表 1)。

2 不同宿主植物 AMF 物种多样性研究进展

AMF 能与 80%以上的陆生植物根系形成菌根共生体, 虽然目前研究一般认为 AMF 与宿主植物间无严格的专一性, 但很多研究证实, 即使在同一

表 1 丛枝菌根真菌最新分类系统
Table 1 Updated classification system of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF)

纲 Class	目 Orders	科 Families	属 Genera
Glomeromycetes	Glomerales	Glomeraceae	<i>Glomus</i> , <i>Funneliformis</i> , <i>Rhizophagus</i> , <i>Sclerocystis</i> , <i>Septoglomus</i>
		Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglomus</i>
	Diversisporales	Gigasporaceae	<i>Cetraspora</i> , <i>Dentiscutata</i> , <i>Gigaspora</i> , <i>Intraornatospora</i> , <i>Paradentiscutata</i> , <i>Racocetra</i> , <i>Scutellospora</i>
		Acaulosporaceae	<i>Acaulospora</i>
		Pacisporaceae	<i>Pacispora</i>
		Diversisporaceae	<i>Diversispora</i> , <i>Corymbiglomus</i> , <i>Otospora</i> , <i>Redeckera</i> , <i>Tricispora</i>
		Sacculosporaceae	<i>Sacculospora</i>
	Paraglomerales	Paraglomeraceae	<i>Paraglomus</i>
	Archaeosporales	Geosiphonaceae	<i>Geosiphon</i>
		Ambisporaceae	<i>Ambispora</i>
		Archaeosporaceae	<i>Archaeospora</i>

生境中,不同种类宿主植物根内或根际土壤中 AMF 物种多样性均存在较大差异,说明不同宿主植物会影响 AMF 物种多样性水平。张伟等^[14]依据孢子形态鉴定对海南八门湾 8 种红树根际土壤中 AMF 物种多样性进行了研究,共分离鉴定出 AMF 4 属 16 种,优势属为 *Glomus* 和 *Acaulospora*,首次在红树植物根际土壤中分离到 *Gigaspora* 和 *Fuscutata* 两属,还发现了我国 AMF 新记录种 *F. savannicola*。Öpik 等^[15]对俄罗斯北部针叶林与落叶阔叶林之间的过渡性森林 10 m × 10 m 样方中的 10 种植物根系内 AMF 物种多样性进行了调查,共发现了 47 个 AMF 类群,几乎是整个森林中植物物种数量。Wang 等^[16]调查了中国漳州 20 种药用植物根系及根际土壤中 AMF 分布,共发现 AMF 66 种, *Glomus* 为优势属, *G. melanosporum*、*Acaulospora scrobiculata*、*G. etunicatum*、*Funneliformis mosseae* 和 *G. rubiforme* 为优势种。Higo 等^[17]调查了覆盖条件下小麦(*Triticum aestivum*)、大麦(*Hordeum vulgare*)、豌豆(*Pisum sativum*)、长柔毛野豌豆(*Vicia villosa*)根系内 AMF 群落,发现不同作物根系内 AMF 种类及多样性是不同的。但是,也有研究指出,AMF 多样性会影响植物群落组成。因此,AMF 物种多样性与宿主植物物种多样性是一种相辅相成的关系^[18]。

3 不同生境中 AMF 物种多样性研究进展

AMF 具有很强的适应性,在地球不同生态系统中几乎都有分布。热带雨林、高原、农田、沙漠、湿地、干热河谷、重金属污染区、盐碱地、红树林、冻土等生态系统中都检测到 AMF 的存在。Zangaro 等^[19]研究了巴西南部大西洋热带雨林中的 AMF 物种多样性,发现根系的营养状况显著影响 AMF 群落,生长季节的 AMF 物种多样性要高于非生长季节。Estrada 等^[20]调查了地中海沙丘和盐碱环境中代表性植物 *Asteriscus maritimus* 根际土壤中 AMF 物种多样性,发现这两个生境中 AMF 物种多样性是相似的,但在盐碱环境中孢子密度要比沙丘高 6 倍。王琚钢等^[21]研究了内蒙古西部沙漠地区蒙古扁桃(*Prunus mongolica*)根际土壤中 AMF 物种多样性,

共鉴定出 AMF 4 属 11 种和 1 个未知种,优势种为 *Acaulospora rehmi* 和 *Glomus mosseae*。Wei 等^[22]对中国南部 4 个废弃镉矿区和 1 个相邻区域的 AMF 物种多样性和群落组成进行了研究,发现 AMF 物种多样性随镉浓度升高而降低,镉污染是影响 AMF 群落结构的主导因素。Alguacil 等^[23]研究了委内瑞拉莫罗科伊国家公园内 4 个珊瑚礁上的海葡萄(*Coccoloba uvifera*)根际土壤 AMF 物种多样性,发现 AMF 物种多样性及群落分布与年平均降雨量、珊瑚礁的土地面积以及土壤理化性质显著相关。Varga 等^[24]在沼泽地内沿潮汐梯度对红树植物根系中的 AMF 进行了研究,发现潮水持续时间是影响 AMF 物种多样性的重要因素,并且 AMF 群落对生境存在偏好性。Wang 等^[25]对芬兰北部北极地区的 AMF 群落进行了研究,共发现 18 个 AMF 种,优势种为 *Acaulospora undulate* 和 *Ambispora fennica*,而且 AMF 多样性和丰富度要低于其他地区。到目前为止,还没有学者研究南极地区的 AMF 物种多样性,只有 Phipps 等^[26]对化石中 Glomerales 目的 Glomineae 和 Gigasporineae 两个亚目的菌丝和丛枝泡囊结构进行了详细描述,证实了早在三叠纪就有 AMF 与 *Antarcticecas* 根系形成共生关系。值得注意的是,在不同生态系统中,AMF 的优势群落会存在差异,如在热带雨林中,AMF 优势群落为 *Scutellospora*、*Acaulospora* 和 *Glomus*^[19];在干旱生态系统中,AMF 优势群落为 *Septoglomus*、*Acaulospora* 和 *Glomus*^[20,27];在农业生态系统中,AMF 优势群落为 *Glomus*^[28-29];在水生生态系统中,AMF 优势群落为 *Glomus* 和 *Acaulospora*^[14,24];在寒冷地区,AMF 优势群落为 *Acaulospora*、*Entrospora* 和 *Glomus*^[25,30],这些不同的优势 AMF 群落组合能够帮助植物适应不同的生态系统,特别是极端生境。

4 基于形态鉴定的 AMF 物种多样性研究进展

利用传统方法研究 AMF 物种多样性主要是对

宿主植物根际土壤中孢子进行形态学鉴定。刘声^[31]对鄂尔多斯高原不同生境中锦鸡儿属植物根际土壤中的AMF物种多样性进行了研究,共分离到AMF 24种,发现锦鸡儿属不同种的AMF种类和多样性会有所不同。Wang等^[32]运用孢子形态鉴定方法研究了不同海拔梯度柑橘根际土壤中AMF物种多样性,发现物种丰富度和多样性指数随海拔升高呈现不断下降的趋势。de Silva等^[27]首次对巴西半干旱环境(干旱森林、过渡区和潮湿森林)的AMF物种多样性进行了形态学研究,共发现50个AMF种,并指出在局部范围内影响AMF物种多样性的主导因素是土壤与植被类型,其次是季节,干季AMF物种多样性要明显高于湿季。但随着分子技术的运用,形态学鉴定逐渐显现出以下缺点:(1) 到目前为止尚不能解决AMF离体纯培养的问题,最接近的胡萝卜根培养体系也只能算是半纯培养,这就无法运用形态学研究宿主植物根系中AMF物种多样性^[33]。(2) 形态学的研究对象是宿主植物根际土壤中的AMF孢子,但由于采样时间、宿主植物的不同生长阶段、土壤中取食AMF孢子生物类群的存在、有些AMF种不产生孢子或者产生形态相似的孢子等因素,导致根际土壤中的孢子不能够精确地反映出所有的AMF类群。(3) AMF孢子在不同生长环境中存在着一定的形态特征差异,这就需要研究者具备熟练的鉴定技能。通常情况下,分析一个土壤样本需要花费3~6 h,尤其是潮湿土壤中的孢子存在严重退化现象,往往需要重复分析^[34]。(4) 孢子形态学鉴定的主要依据是网站和著作中提供的图片,且大部分为示意图,与实际操作中显微镜下观察到的孢子存在偏差,因此鉴定也相对困难^[35]。虽说形态学研究具有一些缺点,但AMF物种多样性研究的最终目的是保护AMF物种资源并将其运用到实践中,这就需要依靠传统形态学鉴定以及富集培养,因此形态学方法在AMF物种多样性研究和应用中是不可缺少的。当前针对AMF物种多样性的研究大多数都集中在理论层面,为避免形态学鉴定潜在的缺点,分子技术已

被广泛用于评估土壤及根系中AMF物种多样性。

5 基于分子技术的AMF物种多样性研究进展

5.1 AMF 分子标记区域

Simon 等^[36]首次将以 PCR 为基础的分子生物学方法运用到 AMF 物种多样性研究中,大大加深了人们对 AMF 物种多样性的认识,尤其是宿主植物根系中的 AMF。利用分子技术研究 AMF 物种多样性一般是基于 rRNA 基因的不同区域,主要包括局部小亚基(Small subunit, SSU)、内转录间隔区(Internal transcribed spacers, ITS, 包括 ITS1、5.8S 和 ITS2)、部分大亚基(Large subunit, LSU) 3 个部分,将这 3 个区域单独或者组合起来就能用作确定 AMF 物种、进行系统发育分析的分子标记。由于不同区域具有不同的 AMF 物种辨别能力和确定公共数据库中 AMF 序列的能力^[37],所以,在分子研究中选择合适的 rRNA 基因标记区域是至关重要的。ITS rRNA 基因区域由于能提供大量的 AMF 变异序列,因而可以很好地评估 AMF 物种多样性。Redecker^[38]设计了针对该区域的引物,在 AMF 物种丰富度比较低时也具有较高的灵敏度,有助于发现样本中非优势 AMF 物种。SSU rRNA 基因区域是当前分子生物学研究中使用最广泛的分子标记区域,相对于 ITS 区域来讲,该区域具有较低的变异性,能够将球囊菌门(Glomeromycota)汇聚成一个单独数据集,有利于进行系统发育分析。针对该基因设计的引物包括 NS31-AM1^[36,39]、AMV4.5NF-AMDGR^[40]、AML1-AML2^[41]、NS31-AML2^[36,41],这些引物能排除共扩增的植物 DNA 及非目标真菌^[42]。LSU rRNA 区域检测 AMF 物种多样性的能力几乎可以与 ITS 区域相媲美^[37],针对该区域设计的引物包括 FLR3-LSUmBr^[43]和 Glo454-NDL22^[44-45],此外,Krüger 等^[43]认为扩增 1 500 bp rRNA 基因长度能足够好地在种水平上研究 AMF 物种多样性,涵盖了部分 SSU 区域、整个 ITS 区域和局部 LSU 区域,该引物系统相较于其他

引物来说具有较高的 AMF 物种多样性,但是由于其扩增的 DNA 片段长度过长,在实际研究中应用较少。

5.2 Sanger 测序

Sanger 测序技术的一般流程是先提取土壤或宿主植物根系 DNA,选择合适的特异性引物进行 PCR 扩增,对混合基因片段进行分离,测定目的片段 DNA 序列,进行系统发育分析,达到鉴定 AMF 的目的。近几年来,经常使用的 Sanger 测序技术主要包括变性梯度凝胶电泳(Denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)、限制性片段长度多态性(Restriction fragment length polymorphism, RFLP)、末端限制性长度多态性(Terminal-restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)、单链结构多态性(Single-strand conformation polymorphism, SSCP)。Corredor 等^[46]利用 DGGE 技术研究了短轮伐期集约栽培的健康与患病柳树的 AMF 物种多样性变化情况,指出 AMF 群落变化影响着植物的健康状况,在健康和患病植物间 DGGE 图谱和主要条带序列是不同的。Senés-Guerrero 等^[47]利用 RFLP 技术对不同海拔高度的马铃薯根系及根际土壤中 AMF 物种多样性进行了调查,发现植物根系与根际土壤中 AMF 物种多样性存在较大差异,最高的 AMF 物种多样性出现在高海拔地区。Bainard 等^[48]利用 T-RFLP 技术发现在林木与玉米套种田地的土壤中,AMF 物种多样性和丰富度要明显高于单独种植玉米的田地,而且 AMF 群落组成也存在显著差异。Wetzel 等^[34]利用 T-RFLP 技术和形态学方法研究了耕作和免耕地区的 AMF 物种多样性,发现 T-RFLP 技术能更好地地区分 AMF 类群,很好地检测出 AMF 群落组成和物种多样性变化。SSCP 技术与上面 3 种分子标记技术是不同的,它是利用 DNA 单链的构象差异将大小相同但是序列不同的 DNA 片段进行分离,能够比较灵敏地检测出只有几个碱基差异的 DNA 片段。Stukenbrock 等^[49]利用 SSCP 技术研究了农业生态系统中 3 个 AMF 种群(*Glomus mosseae*、*G. caledonium* 和 *G. geosporum*)的遗传变

异数量和分布情况,结果发现这 3 个种群的孢子基因型都是独一无二的,并没有发生基因重组,不同土壤管理措施会对 AMF 种群遗传结构产生影响。虽然,当前大部分 AMF 物种多样性数据是利用 Sanger 测序方法获得的,该方法也能在很大程度上弥补形态学方法的缺陷,但也存在着一些不容忽视的问题。一方面,由于成本问题,运用该方法不能对全球不同地理区域和生态系统的 AMF 物种多样性进行大规模调查;另一方面,由于该方法提供的测序数据较少,所以不能完全检测出样本中的 AMF,特别是比较稀有的群落。

5.3 高通量测序技术

Öpik 等首次利用 454 焦磷酸测序技术调查了自然生境中的 AMF 物种多样性,使 AMF 物种多样性研究进入一个新的阶段^[15]。相较于 Sanger 测序,454 焦磷酸测序技术以较低的成本提供更多的序列数据,能评估复杂的 AMF 群落,便于发现非优势 AMF 种类^[15]。近年来,焦磷酸测序技术被广泛运用到不同生态系统的 AMF 物种多样性研究中。van Geel 等^[50]利用 454 焦磷酸测序技术和模拟生物学方法(*In silico*)对已运用到 AMF 研究中的 6 对引物(NS31-AM1、AMV4.5NF-AMDGR、AML1-AML2、NS31-AML2、FLR3-LSUmBr 和 Glo454-NDL22)进行了系统的评估,为今后选择合适的特异性引物研究 AMF 物种多样性及群落特征提供了科学指导。Bainard 等^[51]利用 454 焦磷酸测序技术对加拿大草原地区的 AMF 物种多样性进行研究,发现土地利用方式显著影响 AMF 物种多样性和群落组成,而土壤类型几乎对该地区的 AMF 群落没有影响。Xiang 等^[28]也发现不同的土地利用方式会显著影响 AMF 物种多样性。此外,不同的管理方式和增施额外的氮磷肥也会使农业生态系统中 AMF 物种多样性发生变化:de Beenhouwer 等^[52]发现集约化管理的小叶咖啡(*Coffea arabica*)林和天然咖啡林,AMF 物种多样性具有较大差异,并且天然咖啡林中 AMF 群落组成是比较独特的,从 AMF 角度为咖啡天然

林的保护提供了依据。Lin 等^[29]利用 454 焦磷酸测序技术对中国北方长期平衡施肥的农田土壤中 AMF 物种多样性进行了研究,发现长期施氮磷肥会显著降低 AMF 物种多样性和丰富度,并会导致 AMF 群落结构发生转变。Hiiesalu 等^[53]利用 454 焦磷酸测序技术研究了北美草原上维管束植物与 AMF 物种丰富度之间的关系,发现 AMF 丰富度与植物物种的丰富度呈显著正相关,与植物地下部分生物量和总生物量呈负相关,为 AMF 种类与宿主植物物种丰富度之间的关系提供了来自于自然生态系统的证据。随着焦磷酸测序技术在 AMF 研究中应用范围的不断扩大,极大加深了人们对不同生态系统中 AMF 物种多样性的认识。但不幸的是, Roche 公司于 2013 年底停止了相关服务及试剂生产,这对利用焦磷酸技术研究 AMF 物种多样性是一个很大的挑战。此外,该技术也存在一定缺陷,与当前在细菌与真菌多样性研究中广泛使用的新技术 Illumina MiSeq 和 Ion Torrent PGM 测序相比,焦磷酸测序技术产生最低的通量(70 Mb/run)和最高的错误序列,并且其成本也很高^[54]。

6 展望

随着新技术的不断发展,人们对于 AMF 物种多样性的研究也会逐渐深入,笔者认为在今后 AMF 物种多样性研究中应着重关注以下 3 个方面:

(1) 分子技术特别是高通量测序技术的运用为 AMF 物种多样性研究带来了很大的机遇,研究者通常会依据自己的实际情况选择引物,但不同的引物具有不同的潜在特异性和扩增能力^[50],导致描述 AMF 群落时会出现偏差,就很难利用同一标准对不同研究结果进行比较。此外,新的测序技术如 Illumina MiSeq 测序被广泛运用到细菌和真菌多样性研究中,但由于其测序长度较短,很少有 AMF 特异性引物适合该平台,导致该方法没有被广泛运用到 AMF 物种多样性研究中。然而,该测序平台具有无可比拟的优势,比如测序速度快、数据量大、产生错误序列的比例和花费的成本低等^[54]。因此,

若能设计出更多合适的引物来匹配新的测序平台,将会极大加深人们对 AMF 物种多样性的认识,这是今后研究者需要解决的重要问题。

(2) 要深入开展全球各生态系统中 AMF 物种多样性研究,尤其是极端环境中的 AMF 种类,研究 AMF 物种多样性与不同环境因子之间的关系及 AMF 对不同环境的适应性,为 AMF 物种资源的保护和利用奠定基础。虽然,当前 AMF 物种多样性研究已遍布了除南极洲外的其他大洲^[55],但是关于冻土区及高寒区等极端环境的报道却较少,AMF 能在极端环境条件下存活具有怎样适应机制的报道更少,这就需要进行深入调查研究,挖掘并利用好这些极端环境中独特的 AMF 物种。

(3) 利用形态学方法结合分子生物学方法对 AMF 物种多样性进行研究,尤其需要着重解决 AMF 离体纯培养的问题。虽然分子技术的运用极大地促进了 AMF 物种多样性研究,但通过分子手段得到的仅仅是 AMF 分子序列,这对于 AMF 物种多样性的评估和理论研究是非常便利的,而对 AMF 资源的保护和利用均需依靠形态学方法,从这个意义上讲,将形态学与分子手段相结合才能更好地研究 AMF 物种多样性。更重要的是,当前还没有解决 AMF 离体纯培养的问题,最接近的胡萝卜根培养体系也只能算是半培养,如何解决 AMF 离体纯培养技术这一瓶颈,可能是 AMF 物种资源保护与利用这一领域的主题。所以,不仅要在理论上加大对 AMF 物种多样性的研究力度,更加全面详细地研究不同生态系统中的 AMF 物种多样性,还要考虑将 AMF 物种资源大规模运用到实践生产中,尤其是一些独特生境中的 AMF 种类,这就迫切需要解决 AMF 离体纯培养问题,从 AMF 角度为特殊生态系统的植被保护和恢复提供科学依据。

参考文献

- [1] Fitter AH, Helgason T, Hodge A, et al. Nutritional exchanges in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: implications for sustainable agriculture[J]. *Fungal Biology Reviews*, 2011, 25(1): 68-72
- [2] Smith SE, Smith FA. Fresh perspectives on the roles of arbuscular mycorrhizal fungi in plant nutrition and growth[J].

- Mycologia, 2012, 104(1): 1-13
- [3] Gianinazzi S, Golotte A, Binet MN, et al. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services[J]. Mycorrhiza, 2010, 20(8): 519-530
- [4] Smith SE, Read DJ. Mycorrhizal Symbiosis[M]. 3rd Edition. Amsterdam Boston: Academic Press, 2008
- [5] Remy W, Taylor TN, Hass H, et al. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1994, 91(25): 11841-11843
- [6] Tulasne LR, Tulasne C. Fungi nonnulli hypogaei, novi v. minus cogniti act[J]. Giorn Bot Ital, 1845, 2(Pt1): 35-63
- [7] Gerdemnn JW, Trappe JM. The endogonaceae in the Pacific Northwest[M]. New York: Mycologia Memoir, 1974
- [8] Morton JB, Benny GL. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae[J]. Mycotaxon, 1990, 37: 471-491
- [9] Schüßler A, Schwarzott D, Walker C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution[J]. Mycological Research, 2001, 105(12): 1413-1421
- [10] Walker C, Vestberg M, Demircik F, et al. Molecular phylogeny and new taxa in the Archaeosporales (Glomeromycota): *Ambispora fennica* gen. sp. nov., Ambisporaceae fam. nov., and emendation of *Archaeospora* and Archaeosporaceae[J]. Mycological Research, 2007, 111(2): 137-153
- [11] Schüßler A, Walker C. The Glomeromycota: a Species List with New Families and New Genera[M]. Edinburgh & Kew, UK: The Royal Botanic Garden Edinburgh, 2010
- [12] Oehl F, da Silva GA, Goto BT, et al. Glomeromycota: three new genera and glomoid species reorganized[J]. Mycotaxon, 2011, 116(1): 75-120
- [13] Redecker D, Schüßler A, Stockinger H, et al. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota)[J]. Mycorrhiza, 2013, 23(7): 515-531
- [14] Zhang W, Chen Y, Li ZP. Species diversity of arbuscular mycorrhizal fungus associated with mangrove forests in Bamen Bay in Hainan Province[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2014, 35(3): 583-589 (in Chinese)
张伟, 陈熠, 李增平. 海南八门湾红树林丛枝菌根真菌物种多样性[J]. 热带作物学报, 2014, 35(3): 583-589
- [15] Öpik M, Metsis M, Daniell TJ, et al. Large-scale parallel 454 sequencing reveals host ecological group specificity of arbuscular mycorrhizal fungi in a boreonemoral forest[J]. New Phytologist, 2009, 184(2): 424-437
- [16] Wang MY, Jiang P. Colonization and diversity of AM fungi by morphological analysis on medicinal plants in Southeast China[J]. The Scientific World Journal, 2015, 2015: 1-7
- [17] Higo M, Isobe K, Matsuda Y, et al. Influence of sowing season and host crop identity on the community structure of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing roots of two different gramineous and Leguminous crop species[J]. Scientific Research, 2015, 5(2): 107-116
- [18] Liu RJ, Jiao H, Li Y, et al. Research advances in species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2009, 20(9): 2301-2307 (in Chinese)
刘润进, 焦惠, 李岩, 等. 丛枝菌根真菌物种多样性研究进展[J]. 应用生态学报, 2009, 20(9): 2301-2307
- [19] Zangaro W, Rostirolo LV, de Souza PB, et al. Root colonization and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in distinct successional stages from an Atlantic rainforest biome in southern Brazil[J]. Mycorrhiza, 2013, 23(3): 221-233
- [20] Estrada B, Beltrán-Hermoso M, Palenzuela J, et al. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of *Asteriscus maritimus* (L.) Less., a representative plant species in arid and saline Mediterranean ecosystems[J]. Journal of Arid Environments, 2013, 97: 170-175
- [21] Wang JG, Bai SL, Gai JP, et al. Study on arbuscular mycorrhiza fungi diversity and inoculation effect of *Prunus mongolica*[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(6): 155-160 (in Chinese)
王璐钢, 白淑兰, 盖京苹, 等. 蒙古扁桃 AMF 多样性及其 AMF 接种效应研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(6): 155-160
- [22] Wei Y, Chen ZP, Wu FC, 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(1): 18-26
- [23] Alguacil MM, Torrecillas E, Lozano Z, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi communities in a coral cay system (Morrocoy, Venezuela) and their relationships with environmental variables[J]. Science of the Total Environment, 2015, 505: 805-813
- [24] Varga S, Finozzi C, Vestberg M, et al. Arctic arbuscular mycorrhizal spore community and viability after storage in cold conditions[J]. Mycorrhiza, 2015, 25(5): 335-343
- [25] Wang YT, Huang YL, Qiu Q, et al. Flooding greatly affects the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi communities in the roots of wetland plants[J]. PLoS One, 2011, 6(9): e24512
- [26] Phipps CJ, Taylor TN. Mixed arbuscular mycorrhizae from the Triassic of Antarctica[J]. Mycologia, 1996, 88(5): 707-714
- [27] da Silva IR, de Mello CMA, Neto RAF, et al. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi along an environmental gradient in the Brazilian semiarid[J]. Applied Soil Ecology, 2014, 84: 166-175
- [28] Xiang D, Verbruggen E, Hu YJ, et al. Land use influences arbuscular mycorrhizal fungal communities in the farming-pastoral ecotone of northern China[J]. New Phytologist, 2014, 204(4): 968-978
- [29] Lin XG, Feng YZ, Zhang HY, et al. Long-term balanced fertilization decreases arbuscular mycorrhizal fungal diversity in an arable soil in North China revealed by 454 pyrosequencing[J]. Environmental Science & Technology, 2012, 46(11): 5764-5771
- [30] Olsson PA, Eriksen B, Dahlberg A. Colonization by arbuscular mycorrhizal and fine endophytic fungi in herbaceous vegetation in the Canadian High Arctic[J]. Canadian Journal of Botany, 2004, 82(11): 1547-1556
- [31] Liu S. AMF diversity for *Caragana* in different habitats of Oerhtossu Plateau[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2012 (in Chinese)
刘声. 鄂尔多斯高原不同生境锦鸡儿属植物 AMF 多样性[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2012
- [32] Wang P, Shu B, Wang Y, et al. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in red tangerine (*Citrus reticulata* Blanco) rootstock rhizospheric soils from hillside citrus orchards[J]. Pedobiologia, 2013, 56(3): 161-167
- [33] Wang JG, Zheng R, Bai SL, et al. Research progress in mycorrhizal molecular biology[J]. Chinese Journal of Ecology, 2014, 33(3): 816-824 (in Chinese)
王璐钢, 峥嵘, 白淑兰, 等. 菌根分子生物学研究进展[J]. 生态学杂志, 2014, 33(3): 816-824
- [34] Wetzel K, Silva G, Matczinski U, et al. Superior differentiation of arbuscular mycorrhizal fungal communities from till and no-till plots by morphological spore identification when compared to T-RFLP[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 72: 88-96
- [35] Bai SL, Yan W, Hu YJ. Mycorrhizal Research and Ectomycorrhizal Resources of Daqingshan Mountain in Inner Mongolia[M]. Hohhot: Inner Mongolian People's Publishing House, 2011 (in Chinese)
白淑兰, 闫伟, 胡永健. 菌根研究及内蒙古大青山外生菌根资源[M]. 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2011
- [36] Simon L, Lalonde M, Bruns TD. Specific amplification of 18S

- fungus ribosomal genes from vesicular-arbuscular endomycorrhizal fungi colonizing roots[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1992, 58(1): 291-295
- [37] Stockinger H, Krüger M, Schübler A, et al. DNA barcoding of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *New Phytologist*, 2010, 187(2): 461-474
- [38] Redecker D. Specific PCR primers to identify arbuscular mycorrhizal fungi within colonized roots[J]. *Mycorrhiza*, 2000, 10(2): 73-80
- [39] Helgason T, Daniell TJ, Husband R, et al. Ploughing up the wood-wide web?[J]. *Nature*, 1998, 394(6692): 431
- [40] Sato K, Suyama Y, Saito M, et al. A new primer for discrimination of arbuscular mycorrhizal fungi with polymerase chain reaction-denature gradient gel electrophoresis[J]. *Grassland Science*, 2005, 51(2): 179-181
- [41] Lee J, Lee S, Young JPW. Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 65(2): 339-349
- [42] Kohout P, Sudová R, Janoušková M, et al. Comparison of commonly used primer sets for evaluating arbuscular mycorrhizal fungal communities: is there a universal solution?[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 68: 482-493
- [43] Krüger M, Stockinger H, Krüger C, et al. DNA-based species level detection of Glomeromycota: one PCR primer set for all arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *New Phytologist*, 2009, 183(1): 212-223
- [44] Lekberg Y, Schnoor T, Kjølner R, et al. 454-sequencing reveals stochastic local reassembly and high disturbance tolerance within arbuscular mycorrhizal fungal communities[J]. *Journal of Ecology*, 2012, 100(1): 151-160
- [45] van Tuinen D, Jacquot E, Zhao B, et al. Characterization of root colonization profiles by a microcosm community of arbuscular mycorrhizal fungi using 25S rDNA-targeted nested PCR[J]. *Molecular Ecology*, 1998, 7(7): 879-887
- [46] Corredor AH, Rees KV, Vujanovic V, et al. Host genotype and health status influence on the composition of the arbuscular mycorrhizal fungi in *Salix* bioenergy plantations[J]. *Forest Ecology and Management*, 2014, 314: 112-119
- [47] Senés-Guerrero C, Torres-Cortés G, Pfeiffer S, et al. Potato-associated arbuscular mycorrhizal fungal communities in the Peruvian Andes[J]. *Mycorrhiza*, 2014, 24(6): 405-417
- [48] Bainard LD, Koch AM, Gordon AM, et al. Temporal and compositional differences of arbuscular mycorrhizal fungal communities in conventional monocropping and tree-based intercropping systems[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 45: 172-180
- [49] Stukenbrock EH, Rosendahl S. Clonal diversity and population genetic structure of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus* spp.) studied by multilocus genotyping of single spores[J]. *Molecular Ecology*, 2005, 14(3): 743-752
- [50] 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
- [51] Bainard LD, Dai M, Gomez EF, et al. Arbuscular mycorrhizal fungal communities are influenced by agricultural land use and not soil type among the Chernozem great groups of the Canadian Prairies[J]. *Plant and Soil*, 2015, 387(1/2): 351-362
- [52] de Beenhouwer M, Muleta D, Peeters B, et al. DNA pyrosequencing evidence for large diversity differences between natural and managed coffee mycorrhizal fungal communities[J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2015, 35(1): 241-249
- [53] Hiiesalu I, Pärtel M, Davison J, et al. Species richness of arbuscular mycorrhizal fungi: associations with grassland plant richness and biomass[J]. *New Phytologist*, 2014, 203(1): 233-244
- [54] Jünemann S, Sedlazeck FJ, Prior K, et al. Updating benchtop sequencing performance comparison[J]. *Nature Biotechnology*, 2013, 31: 294-296
- [55] Öpik M, Zobel M, Cantero JJ, et al. Global sampling of plant roots expands the described molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Mycorrhiza*, 2013, 23(5): 411-430