

DOI: 10. 11689/j. issn. 2095 – 2961. 2022. 01. 005

甘佳伟 韩晓增 邹文秀. 球囊霉素及其在土壤生态系统中的作用[J]. 土壤与作物 2022 ,11(1) :41 – 53.

GAN J W ,HAN X Z ,ZOU W X. Glomalin and its roles in soil ecosystem: a review[J]. 土壤与作物 2022 ,11(1) :41 – 53.

球囊霉素及其在土壤生态系统中的作用

甘佳伟^{1,2}, 韩晓增¹, 邹文秀¹

(1. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所, 哈尔滨 150081; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 球囊霉素 (Glomalin) 是一种在土壤中大量存在的、由丛枝菌根真菌 (*Arbuscular mycorrhizal fungi*, AMF) 产生的具有良好热稳性的特殊糖蛋白。球囊霉素因其在促进土壤团聚体形成, 保持团聚体稳定性, 增加土壤有机碳库, 提高植物抗逆能力以及降低重金属在土壤中的毒性等方面的作用备受人们关注。目前由于提取方法的原因, 人们一般将球囊霉素的命名改为球囊霉素相关土壤蛋白 (Glomalin related soil protein, GRSP)。随着研究的不断深入, 人们对 GRSP 在生态系统中的作用展开了广泛的研究。GRSP 对土壤颗粒有较强的胶结作用, 其胶结能力为其他胶结物质的 3 ~ 10 倍; 作为有机碳库的重要组成部分对土壤有机碳的贡献率为 6.98% ~ 31.3%, 并且在土壤中周转时间较长为 6 ~ 42 年; GRSP 还可以整合不同的重金属, 减少它们在土壤中的毒害作用以及降低潜在毒性。但想要更为深入的了解 GRSP 在生态系统中的作用需要对其结构进行进一步的了解、提取测定方法进行进一步的优化。本文重点总结了国内外研究中 GRSP 对土壤团聚体、土壤有机碳库的作用, GRSP 研究中存在的主要问题以及未来的研究要点。

关键词: 丛枝菌根真菌; 球囊霉素相关土壤蛋白; 土壤团聚体; 土壤碳库

中图分类号: S153

文献标识码: A

文章编号: 2095 – 2961 (2022) 01 – 041 – 13

Glomalin and its roles in soil ecosystem: a review

GAN Jiawei^{1,2}, HAN Xiaozeng¹, ZOU Wenxiu¹

(1. Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, China;

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Glomalin, abundant in soil, is a special glycoprotein with good thermostability produced by *Arbuscular mycorrhizal fungi*. Glomalin has attracted more and more attention due to its roles in forming soil aggregates, improving the stability of the aggregates, enhancing the soil organic carbon, increasing the stress resilience of plant and reducing the toxicity of heavy metals in the soil. Currently, because of the limitation of glomalin extraction method, the name of Glomalin has been changed into the Glomalin related soil protein (GRSP). The roles of GRSP in the soil ecosystem have been extensively investigated with the research progress. GRSP has a strong cementing effect on soil particles and its cementing capacity is 3 ~ 10 times higher than other cementing substances; it contributes 6.98% ~ 31.3% of soil organic carbon pool with a longer turnover time of 6 ~ 42 years in the soil; it can also sequester different heavy metals to reduce their toxic effects in the soil and reduce potential toxicity. However, a deeper understanding of the GRSP roles in the ecosystem further understanding of its structure and optimization of extraction and measurement methods is required. This paper summarized the roles of GRSP in soil aggregates and soil organic carbon pools in domestic and international research, and highlighted the main problems in GRSP research and their future research.

Key words: *Arbuscular mycorrhizal fungi*; glomalin related soil protein; soil aggregate; soil carbon pool

0 引言

丛枝菌根真菌 (*Arbuscular mycorrhizal fungi*, AMF) 是一类在自然界中广泛分布的能够与大部分高等

收稿日期: 2021 – 09 – 08; 修回日期: 2021 – 12 – 01.

基金项目: 中国科学院战略性先导专项 A 类 (XDA28070100); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系 (CARS – 04); 国家自然科学基金 (41771327、41807085) .

第一作者简介: 甘佳伟 (1997 –), 男, 硕士研究生, 主要从事土壤物理研究. E – mail: ganjiawei@iga. ac. cn.

通信作者: 邹文秀 (1982 –), 女, 研究员, 主要从事农田土壤肥力研究. E – mail: zouwenxiu@iga. ac. cn.

植物根系共生的土壤微生物^[1]。研究表明, AMF 能与 80% 以上的陆地植物根系形成丛枝菌根 (AM) 共生体^[2-3]。AM 共生体由根系、菌丝、囊泡、真菌的丛枝以及孢子等一系列结构组成, 在这种共生体中由 AMF 提供植物生长所需的养分和水分, 而植物则将光合作用产生的碳水化合物提供给真菌^[4]。化石资料和分子进化数据表明, AMF 在 3.5 ~ 4.5 亿年前^[5] 就与古老的植物形成了菌根共生体, AMF 与植物经过长期的相互作用以及共同进化使得 AM 共生体在自然生态系统中发挥着重要作用^[6]。Jeffries 等^[7] 研究表明, AM 共生体的形成可以明显地改善宿主植物对矿质营养的吸收能力 (特别是磷元素), 还能增强宿主植物抗病、抗干旱以及抗盐害等诸多抗逆能力。同时, AMF 具有功能的多样性^[8], 这种多样性除了促进土壤团聚体的形成和有机碳的固定, 还可以改善植物吸收营养的能力与植物抗逆能力。由于 AMF 的离体纯培养仍然是一个难题, 多数学者研究关注的是 AMF 的菌根分泌物。1996 年, Wright 等^[9] 从美国亚特兰大市中部地区未受扰动的酸性土壤中提取了一种特殊的蛋白质。这种蛋白质是在 121 °C 高温下用 20 mmol·L⁻¹ 的柠檬酸钠溶液提取出来的, 这种方法在下文简称 Wright 经典法。初步判断, 这种蛋白是由 AMF 产生的并被命名为球囊霉素 (Glomalin)。随着研究的深入以及对球囊霉素检测方法的不断改进, 将这种特殊的蛋白命名为球囊霉素有一些片面。因为, 在最初的提取中认为这种蛋白全部是 AMF 分泌的基因蛋白, 而忽略了蛋白中是否含有其他非来源于 AMF 的成分, 因此 Rosier 和 Rillig 等^[10] 认为用“球囊霉素相关土壤蛋白” (Glomalin related soil protein, GRSP) 代替球囊霉素更为合适。而且, 许多的研究者赞同 Rillig 等人的观点。但 Wright 等^[11] 认为, 可以继续将“glomalin”用来表示从土壤中浸提出球囊霉素这种蛋白质和土壤其他蛋白质的总称, 而用“Glomalin”专指球囊霉素蛋白自身。至今, 研究者们对球囊霉素的命名尚无定论, 科学家们根据自己的研究需要采取相应的命名方式。在大多数的研究中, 人们并没有把 AMF 的基因产物球囊霉素 (glomalin) 与用 Wright 法提取出的产物 GRSP 进行严格的区分, 一般情况下二者是通用的, 表达的是一个概念。本文将用 Wright 经典法提取出来的产物称为“GRSP” (球囊霉素相关土壤蛋白), 而 AMF 分泌的基因产物称为球囊霉素 (Glomalin) 以便于区分。笔者在 Web of Science 所有数据库中以 Glomalin 为主题, 以 2011 - 2020 这 10 年为时间区间进行检索, 从发文量和被引用频次分析发现 (图 1 与图 2), 球囊霉素的研究热度在逐年上升, 可能是因为它在生态系统中的作用较为广泛而逐渐被关注, 将成为未来的研究热点。

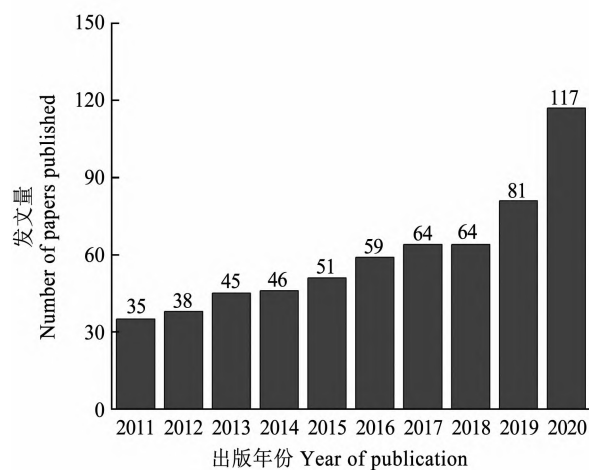


图 1 土壤中球囊霉素近十年的发文量

Fig. 1 The number of publications on glomalin field in soil in the last decade

根据对 GRSP 结构和性质的研究, 因其高的含碳量以及好的热稳定性使得 GRSP 在土壤团聚体、土壤

有机碳以及对植物的抗逆方面有着重要的意义。本文对 GRSP 的发现、分类、性质以及 GRSP 在土壤生态系统中的作用进行简要综述, 为深入了解 GRSP 以及对 GRSP 的生态学功能提供参考。

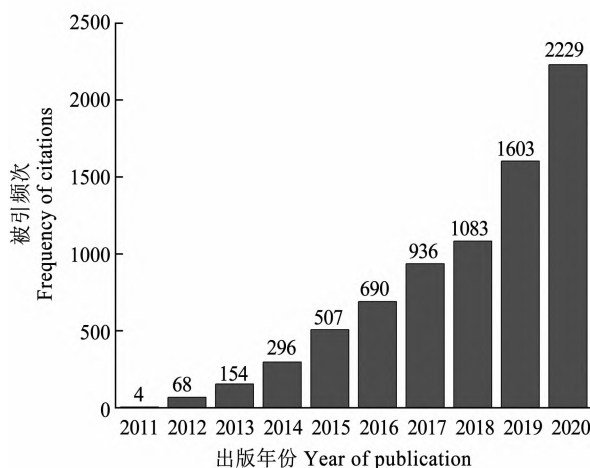


图 2 土壤中球囊霉素近十年的被引频次

Fig. 2 Citation frequencies of glomalin in soil in the last decade

1 GRSP 的发现

1996 年, 美国马里兰大学的 Wright 等^[9]在 AMF 菌丝的表面提取出了一种未知蛋白, 这种未知蛋白是在 121 °C 高温下用 20 mmol·L⁻¹ 的柠檬酸钠溶液从 AMF 菌丝表面提取得到的, 能和单克隆抗体 (MAb32B11) 发生免疫性荧光反应, 并且发现这种未知蛋白非常稳定, 不溶于水, 只能用中性至碱性的柠檬酸钠溶液才能提取出来。初步认为, 这种未知蛋白是由 AMF 分泌的专性蛋白, 并将其称为球囊霉素。研究发现, 球囊霉素是由球囊霉属 AMF 分泌的糖蛋白^[12], 球囊霉素产生于 AM 共生体的根内菌丝或者是根外菌丝的表面, 并且当菌丝死亡后球囊霉素可以从菌丝表面脱落进入到根际土壤中^[13]。为了将这种从 AMF 菌丝表面提取的蛋白与从根际土壤中提取的蛋白进行对比, 1998 年, Wright 等^[14]进行了进一步的实验, 取亚特兰大市中部的土壤用 pH 为 8.0、浓度为 50 mmol·L⁻¹ 的柠檬酸钠溶液在 121 °C、高压条件下提取出球囊霉素。将球囊霉素与从 AMF 菌丝提取的蛋白进行聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS - PAGE) 比较分析, 发现他们的条带基本一致。因此认为, 这种在高温高压下用中性至碱性的柠檬酸钠溶液从土壤中提取球囊霉素的方法是可行的, 并且初步认定球囊霉素是由 AMF 产生的。

到目前为止, 球囊霉素是被发现的唯一一种由 AMF 分泌进入土壤中的蛋白^[15], 因 AMF 在土壤中广泛存在^[16], 当 AMF 死亡裂解后其分泌物也将大量进入和沉积到土壤中。目前研究者们对 AMF 在生态系统中的物质代谢和能量循环中的作用和扮演的角色已经作了非常多的研究^[17], 而对于 AMF 分泌物 (如球囊霉素) 的研究不如对 AMF 本身在生态系统中的功能的研究那样深入和广泛。例如, 对球囊霉素的具体结构尚不清楚, 限制了对球囊霉素功能的研究^[15]。但近年来随着分子色谱、质谱和电镜技术的发展, 人们对球囊霉素的结构和性质有了初步的认识。Gadkar 和 Rillig 等^[18]在 2006 年通过对 AMF 进行离体培养, 然后利用液相色谱 - 质谱联用分析方法获得了球囊霉素的基因序列, 并对此基因序列进行原始的推测描述, 初步假定球囊霉素是热激蛋白 60 (heat shock protein 60, HSP60) 的同系物。他们的研究为今后球囊霉素结构的描述和性质的推测奠定了基础, 未来研究学者还可以通过更为精密、更为先进的手段来观测球囊霉素的结构。

2 GRSP 的分类

因球囊霉素的未知结构并且提取方法有限,目前并不能从土壤中提取出高纯度球囊霉素^[9,13,15]。最初测定球囊霉素方法的步骤为,先用柠檬酸钠从土壤中提取出球囊霉素浸提液,然后采用考马斯亮蓝法(Bradford)测定提取液中的球囊霉素含量,或者应用 AMF 单克隆抗体 MAb32B11 进行酶联免疫(ELISA)反应测定^[9]。依据球囊霉素提取的难易程度和与单克隆抗体 MAb32B11 的反应结果,把球囊霉素分为 2 组 4 类。分别为:(1) 总球囊霉素(Total glomalin, TG);(2) 易提取球囊霉素(Easily extractable glomalin, EEG);(3) 免疫反应球囊霉素(Immunoreactive total glomalin, IRTG);(4) 免疫反应易提取球囊霉素(Immunoreactive easily extractable glomalin, IREEG)^[9,12,14]。这种在高温条件下用柠檬酸钠从土壤中提取球囊霉素的方法并没有考虑土壤中除球囊霉素外的其它物质是否被破坏(如腐殖酸,土壤细菌产生的热稳定态蛋白)^[19],由该方法提取的球囊霉素尚不能确定为真正意义上的球囊霉素。因此,Rillig 等^[20]建议用球囊霉素相关土壤蛋白(glomalin-related soil protein, GRSP)代替球囊霉素(“Glomalin”),表示从土壤中浸提出并用 Bradford 法和 ELISA 法所检测到的蛋白质,这样将更好的与土壤中的其它物质进行区分。并将用 Bradford 法测定的总球囊霉素(TG)更改为考马斯亮蓝法检测的土壤蛋白质(Bradford-reactive soil protein, BRSP)、易提取球囊霉素(EEG)更名为易提取的考马斯亮蓝法检测的土壤蛋白质(Easily extractable BRSP, EE-BRSP),而用 ELISA 法测定的免疫反应球囊霉素(IRTG)更名为免疫反应土壤蛋白(Immunoreactive soil protein, IRSP)、免疫反应易提取球囊霉素(IREEG)更改为免疫反应易提取性土壤蛋白(Easily extracted immunoreactive soil protein, EE-IRSP)^[10]。本文将依旧采取 Wright^[11]改进后的命名以 T-GRSP 代替 TG,EE-GRSP 代替 EEG 进行论述。

3 GRSP 的性质以及提取测定方法

3.1 GRSP 的物理化学性质

GRSP 通常状态下不溶于水^[9],不易被蛋白酶水解,具有一定的热稳定性,因此在土壤中的性质极为稳定。早期研究者们用 Wright 经典法提取 GRSP 时,认为所提取出的蛋白均为 AMF 分泌的球囊霉素,但经过后续的研究发现,提取出的蛋白中含有来源于非 AMF 的组分,并且对于球囊霉素和 GRSP 的结构也不清楚。Wright 等^[14]最先对 GRSP 进行了分析,通过聚丙烯凝胶电泳(SDS-PAGE)对来自 AMF 菌丝的蛋白和来自土壤的 GRSP 进行了比较,结果表明二者在电泳图中条带基本一致,因此,Wright 认为 GRSP 是一种由 N 连接的糖蛋白。之后,Nichols 的研究表明,GRSP 主要由蛋白质和碳水化合物组成^[21],根据土壤性质的不同 GRSP 中还有含有 Fe^{3+} 、 Ca^{2+} 等阳离子^[22-23]。为了揭示 GRSP 的结构,Gadkar 和 Rillig^[18]采用液相色谱-质谱法对一条来自根内球囊菌与单克隆抗体 MAb32B11 发生免疫反应的蛋白条带进行部分测序。结果发现,该蛋白与热激蛋白 60(heat shock protein 60, HSP60)的 17 个氨基酸序列相似。然后采取退化性 PCR,从根内球囊菌的 cDNA 文库中分离出一种全长 1 773 bp 能够编码 HSP60 的 cDNA,这种蛋白的 N 端含有 3 个糖基化位点,C 端有一串氨基酸残,由此认为 GRSP 是一种糖蛋白,并且为揭示 GRSP 的结构第一次提供了直接性的证据。接着 Schindler 等^[24]对不同矿质土壤和有机土壤进行核磁共振和红外光谱分析,其中 GRSP 分别占矿质土壤和有机土壤总碳量的 25% 和 52%,分析发现 GRSP 中含有芳香烃(42%~49%)、羧基(24%~30%)、碳水化合物(4%~16%)和低脂肪族和碳(4%~11%)。这些结果表明,GRSP 不是典型的糖蛋白而更像是一种腐殖酸。但是因为提取腐殖酸的方法和提取 GRSP

的方法类似,所以在提取 GRSP 时腐殖酸也同时提取了出来,GRSP 的核磁共振谱与腐殖酸的核磁共振谱相似很有可能是以上的原因所造成的,因此,Schindler 的结论有待商榷。

3.2 GRSP 的提取测定方法

想要对 GRSP 进行研究和分析,GRSP 的提取和测定方法是关键。目前的测定方法一般分为两个步骤,第一步是先将 GRSP 从土壤中提取出来,第二步用不同的测定方法进行分析。目前经常采用的方法为考马斯亮蓝法(Bradford 法)与 AMF 单克隆抗体(Mab32B11) 酶联免疫(ELISA) 反应法^[20]。由此可见,在对 GRSP 进行测定时,提取 GRSP 是关键步骤,将会对后续测定产生显著的影响结果。GRSP 的提取步骤为:称取 0.25 g 土壤,加入 2 ml pH 为 8.0 浓度 50 mmol·L⁻¹的柠檬酸钠溶液在 121℃ 下浸提 90 min,然后立即将浸提液在 10 000 r·min⁻¹下离心 6 min 后移走上清液,再加入等体积的浸提液,相同温度下提取 60 min,同样条件下离心并移走上清液,连续浸提直至上清液无色或淡黄色为止,合并上清液而后以备测定^[9]。在此过程中,加入的浸提液的体积、pH 值、高温灭菌时间和离心时间均会对浸提产生影响,进而影响 GRSP 的测定结果。Janos 等^[25]建议在 GRSP 的提取过程中应保持加入浸提液的体积相同,高压灭菌的时间相同以确保实验的准确性。

上述为提取 GRSP 的经典方法为总量球囊霉素土壤相关蛋白(T-GRSP)的提取方法,T-GRSP 一般反映土壤中 GRSP 的积累水平。如果需要测定土壤中新生成的球囊霉素含量,易提取球囊霉素相关土壤蛋白(EE-GRSP)反映了土壤中新生成的 GRSP 含量。提取方法与 T-GRSP 略有不同,具体为:称取土样 0.25 g,加入 2 ml pH7.0、浓度 20 mmol·L⁻¹的柠檬酸钠溶液,121℃ 下浸提 30 min,然后立即将浸提液 4 000 rpm 离心 10 min,而后将上清液转移出来以备测定。无论是 T-GRSP,还是 EE-GRSP 的测定都是采用的考马斯亮蓝法,考马斯亮蓝法的测定前提是在提取过程中除了 AMF 产物之外的土壤中的其他蛋白或者大部分蛋白都被破坏。但 Rosier 等^[10]研究发现,考马斯亮蓝法无法区分土壤中的其他非来源于 AMF 的物质(如丹宁),因此,在对 T-GRSP 和 EE-GRSP 测定时会产生一定的偏差。

4 GRSP 在土壤生态系统中的作用

4.1 对土壤团聚体的作用

土壤团聚体是土壤结构的基本单元,良好的土壤结构对于植物生长有着重要的作用^[26]。土壤团聚体的数量和稳定性是衡量土壤质量的重要指标,提高土壤团聚体的数量和稳定性有利于维持良好的土壤结构。土壤团聚体的形成是一个复杂的过程涉及到物理-化学和生物的因素^[27]。物理-化学过程是黏粒的絮凝和吸附性阳离子的作用。在物理-化学过程中土壤团聚体的形成可以概述为:(1)微小的土块或絮状物与土壤中的有机聚合物在静电引力的作用下或者在多价金属阳离子的作用下形成有机无机聚合物;(2)这些有机无机聚合物通过多价阳离子与腐殖酸的絮凝形成微团聚体(<0.25 mm)^[28]。生物过程是通过土壤动物的活动、植物根系和土壤中菌丝对土壤颗粒的缠绕作用以及微生物产生的有机胶结物质进而促进团聚体形成的过程。在生物过程中土壤团聚体的形成可以概述为:微团聚体在微生物残体以及菌丝和植物根系的作用下形成(>0.25 mm)的大团聚体^[27]。在土壤团聚体形成的过程中,菌根共生体起到了重要的作用^[29]。AM 共生体中的植物根系以及 AMF 在土壤中形成的巨大外生菌丝网络可以胶联土壤颗粒,通过植物根系与菌丝的分泌物将这些土壤颗粒聚集在一起,促进土壤团聚体的形成。其中,土壤团聚体的形成过程中土壤团聚体的稳定性与胶结物质紧密相关^[30],胶结物质包括无机胶结物质和有机胶结物质。研究发现,GRSP 是一种持久性的有机胶结物质^[9],具有较强的胶结作用,比其他的土壤化合物胶结土壤

颗粒的能力强 3 ~ 10 倍。因 GRSP 是一种性质非常稳定的蛋白^[31]，并且对微生物的分解有强烈的抵抗作用，所以这类蛋白可以保护其他蛋白不被破坏，保护土粒和团聚体结构不被破坏，从而减缓团聚体中不稳定的碳被分解的速率。GRSP 中还有一些金属离子^[23]，使得土壤颗粒在这些阳离子的桥键作用下固定到菌丝表面从而形成较为稳定的土壤大团聚体，还可以增加土壤团聚体表面的疏水性从而提高土壤团聚体的水稳性^[32]，因此，GRSP 对土壤团聚体的形成过程和维持团聚体的稳定性特别是对于大团聚体 (>0.25 mm) 起着重要的作用。研究表明，GRSP 在自然生态系统中广泛存在^[33]，包括森林生态系统，农田生态系统和草地生态系统等，GRSP 在不同生态系统中的含量和对生态系统的贡献也不同。

景航等^[34]以黄土高原人工油松林为对象，对其皆伐后恢复的不同植被群落地（幼林地、灌木地、撂荒地）0 ~ 20 cm 土层的团聚体稳定性和 GRSP 的分布特征进行分析，结果表明，不同恢复措施下团聚体中 EE-GRSP（易提取球囊霉素相关蛋白）分布趋势与团聚体稳定性一致，并且相比于其他粒径团聚体，大团聚体 (>0.25 mm) 中 T-GRSP（总量球囊霉素相关蛋白）可以更准确的反映土壤碳库的变化，并且大团聚体中 GRSP 对团聚体稳定性作用更为明显。肖玖军等^[35]采用盆栽试验研究接种 AMF 摩西管柄囊霉 (*Funneliformis mosseae*) 和根内根生囊霉 (*Rhizophagus intraradices*) 对桑树土壤周围 GRSP 以及土壤团聚体和其稳定性的影响研究发现，接种根内根生囊霉显著增加土壤大团聚体 (>0.25 mm) 的比例，使团聚体破坏率 (Percentage of aggregate destruction, PAD) 显著降低，并提高了团聚体的平均质量直径 (Mean weight diameter, MWD) 和平均几何直径 (Geometric mean diameter, GMD)。T-GRSP 和 EE-GRSP 对团聚体组成表现均为正向显著影响，并且对团聚体形成中起着主要作用的是 EE-GRSP，而 T-GRSP 则是团聚体稳定性的主要影响因素。钟思远等^[36]对南亚热带森林中土壤团聚体组成和 GRSP 的含量进行分析表明，南亚热带森林中土壤大团聚体 ($WSA_{>0.25\text{ mm}}$) 含量以及 GRSP 含量均随着演替的进行而增加。相关性分析表明，在南亚热带森林，AMF 生物量与其 T-GRSP 含量和 EE-GRSP 占比有显著相关性；T-GRSP 含量、EE-GRSP 占比与大团聚体含量具有显著相关性，体现了 GRSP 对土壤团聚体的重要作用。彭思利等^[37]通过将不同 AMF 接种到中性紫色土中，定量的分析和比较了接种 AMF 后根际、菌根际和菌丝际土壤的结构变化，结果表明，在接种 3 种不同的 AMF 后，EE-GRSP 与紫色土中 $WSA_{>0.25\text{ mm}}$ 、MWD 和 GMD 呈显著相关，相关系数为 0.777，体现了 EE-GRSP 在团聚体形成中的贡献。

然而，土壤中的细菌也会分泌一些热稳定的蛋白质^[38]，它们和土壤中其他有机质以及矿物吸附剂（黏土矿物）也相互作用，也可能对维持土壤团聚体的稳定性和生态系统的功能起着一定的作用。因为 GRSP 不是性质均一的蛋白，包含 AMF 分泌的球囊霉素以及其他蛋白（比如细菌和植物根系分泌的蛋白），所以这些非球囊霉素的蛋白有可能为土壤细菌所产生，也可能对土壤团聚体的形成和维持土壤团聚体的稳定性起到重要的作用，但目前没有这方面的研究来证实这项猜测。因此，可以对 GRSP 中非 AMF 的蛋白对土壤团聚体的作用进行探究，从而进一步证实 AMF 分泌的球囊霉素对土壤团聚体的作用，或者提出新的假说用来完善已有的结论。

4.2 对土壤有机碳库的贡献

土壤有机质是一种分布在土壤中自然来源（非其它生物的组成部分）的有机物质，是土壤中生物吸收养分的重要来源^[39]。土壤有机碳作为土壤有机质的重要组成部分，来源较为广泛，包括植物来源和土壤食物网来源，包括土壤动物、真菌、原生物和原核微生物^[40]。菌根共生体即存在植物部分又存在真菌部分，其对土壤有机碳的贡献不可忽视。在菌根共生体中，由于菌根真菌无法进行光合作用，需要从宿主植物获取碳水化合物来满足自身生长发育的需要。在这个过程中，菌根真菌不仅把宿主植物的碳源进行

了固定, 并且将碳源转移到土壤中。虽然不同的菌根真菌从宿主植物获得碳源量差异较大, 从 4% ~ 26%^[41-42], 但菌根真菌将碳源以生物量和分泌物的形式固定在了土壤生态系统中并起到了重要的碳汇功能^[17]。菌根真菌的碳汇一般包括两个部分: 菌根真菌的生物量和菌根真菌在土壤中的分泌物。根据植物类群以及对菌根的形态解剖结构特征, 将菌根真菌分为外生菌根、丛枝菌根等七类^[43]。目前全世界发现了有 7 750 多种外生菌根真菌和 200 多种丛枝菌根真菌 (AMF)^[44], 并且对丛枝菌根真菌进行较多的研究。因此, 下文将较多的以 AMF 为例来说明菌根真菌对土壤有机碳库的贡献。菌根真菌的生物量一般由孢子、子实体、菌丝体、丛枝、孢囊和菌根组成。在 AM 共生体中, AMF 会在共生体内产生内生菌丝, 在共生体外产生外生菌丝^[45]。目前对 AMF 生物量的测算一般限于 AM 共生体外的外生菌丝的这些结构, 而对于 AM 共生体内的内生菌丝、丛枝和孢囊和在土壤中散落的孢子这部分生物量缺乏测算手段和研究。菌根真菌的生物量在不同的生态系统中差异较大, 但其对土壤有机碳的贡献不可忽视。

AMF 的分泌物对碳汇具有重要的贡献, 其中 GRSP 对土壤有机碳库的贡献不可忽视^[23]。LoveLock 等^[46]对哥斯达黎加热带雨林的 0 ~ 10 cm 土壤中的 GRSP 含量进行估算, 结果表明表层土壤中 GRSP 平均含量为 $3.94 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-3}$ ($1.45 \text{ Mg (C)} \cdot \text{hm}^{-2}$), 占土壤总碳量的 3.2%, 总氮含量的 5%。权常欣等^[47]对广东省 164 个代表性森林样地土壤中 GRSP 的含量进行分析发现, 森林 0 ~ 10 cm 土层中 T-GRSP 的质量分数为 $3.26 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, EE-GRSP 质量分数为 $1.11 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, GRSP 与土壤有机碳含量、阳离子交换量呈显著的正相关关系, 并且 GRSP 对广东省森林土壤的有机碳的绝对贡献率为 2.3%, 这与 LoveLock 计算的结果相似。Wright 等^[9]的研究表明, 土壤有机碳的含量与 GRSP 的含量有明显的正相关。唐宏亮等^[48]对 4 种土地利用方式 (农田、人工草地、果园、撂荒地) 中 GRSP 在不同土层中分布的研究发现, 在河北省中部潮土中 T-GRSP 的含量为 $1.41 \sim 3.18 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 占土壤有机碳的 6.98% ~ 31.34%, 除了撂荒地外 GRSP 的含量随着土壤深度的增加表现出降低的趋势, 并且土壤中 GRSP 的含量与土壤有机碳的含量呈负相关。这个结果表明了 GRSP 为土壤中的重要碳库, 但 GRSP 与土壤有机碳的关系与 Wright 等^[9]的结论相悖, 可能是因为唐宏亮研究的 4 种利用方式的土壤都为同一土壤类型, 不能代表 GRSP 在土壤中的普遍含量, 而 Wright 等^[9]的研究涉及了 12 种不同类型的土壤具有较广泛的代表性。阙弘等^[49]也做了类似的研究, 通过对 5 种不同利用方式土壤中不同土层的 GRSP 含量的分析发现, 土壤中 T-GRSP 的含量为 $1.96 \sim 3.12 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 占土壤有机碳的 12.5% ~ 29.0%, 并且 T-GRSP 的含量与土壤有机碳含量呈极显著正相关。王诚煜等^[50]对内蒙古中北部的半干旱区土壤中的 GRSP 的分布进行研究发现, 研究区域的 T-GRSP 的平均含量为 $1.44 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 占有机碳平均值的 12.86%, 并且 GRSP 与有机碳呈显著正相关。贺学礼等^[51]对内蒙古河北两省的农牧交错带沙棘集中分布区的 3 块典型样地 0 ~ 50 cm 土层中 GRSP 的空间分布以及与土壤因子的关系进行分析发现, 3 块样地 T-GRSP 占有机碳的比例分别为 27.9%, 15.0% 和 21.5%。综上所述, GRSP 作为土壤有机碳库重要的组成部分并且在不同生态系统土壤中含量存在差异, 其含量与土壤类型、土地利用方式、植被类型以及 AMF 的长势等因素密切相关。研究表明, GRSP 在土壤中的周转时间较长, 可达 6 ~ 42 年^[23], 使得 GRSP 作为土壤有机碳的重要来源的同时又保持了土壤有机碳库的稳定性。

4.3 对植物抗逆性的调控作用

干旱、盐分胁迫和极端温度等非生物胁迫导致了土壤退化, 并对农业造成严重威胁, 非生物胁迫已经成为全球作物产量损失的主要原因^[52]。土壤中的一些有益微生物, 特别是细菌和真菌, 可以克服不利影响并改善不良环境胁迫下的植物的机能^[53]。其中, AMF 可以通过增强对矿质盐分的吸收和增加对生物和

非生物胁迫的耐受性,来改善植物的生长和生理状况^[54-55]。从机制上来说,在AM共生体中,植物对P、Zn等矿质营养的需求量较大,对N的需求量较少,这导致更多的有机C从植物体运移到了AMF中^[56-58],进而促进菌丝的发育和产生更多的GRSP。因环境胁迫产生的更多GRSP将会帮助土壤生态系统增强对不良环境的抵抗力。目前已有研究证明,植物对胁迫的响应会伴随着土壤中GRSP水平的增加而增强,这可能是因为增加了AMF丰度^[59]。贺学礼等^[60]研究在水分胁迫条件下,接种AMF提高了民勤绢蒿菌根侵染率和生物量,增加了植株中的全P含量。叶佳舒等^[61]在研究AMF在干旱胁迫下对紫花苜蓿生长和土壤水稳性团聚体影响时发现,干旱胁迫下AMF通过改善植物对矿质营养(比如磷)的吸收,通过调节植物体内渗透物质(如脯氨酸的增多)等机制来增强植物的抗旱性,这与贺学礼等^[60]、Clark和Zeto^[54]的结论基本一致,说明了在植物受到不良的非生物胁迫时,AMF可以通过AM共生体中植物根系对土壤水分和矿质营养的吸收,间接改善植物体内物质代谢增加可以抵御不良环境的物质(如可溶性糖,氨基酸,可溶性蛋白质等)以及产生GRSP来提高土壤抵抗力稳定性。

4.4 对土壤重金属污染修复的作用

随着工业的快速发展,我国面临着严重的环境污染问题,包括空气污染、水污染和土壤污染。土壤污染近年来被逐渐的重视起来,其中,土壤重金属污染因直接影响人类健康,成为日益严峻的环境问题,已经成为学者关注的重点^[62]。重金属主要指汞、铬、铅、镉、铜、锌、砷和非金属氟^[63]。传统的修复方法一般包括物理修复、化学修复和工程修复。但传统的修复方法存在成本高、破坏土体和引入修复剂,而造成二次污染等一系列问题;生物修复作为一种比较温和的修复土壤重金属的方式,逐渐被人们研究和重视。生物修复包括植物修复和微生物修复,其中,植物修复研究虽然可以利用特定植物的超富集吸附重金属,但这些特定植物一般生长缓慢、生物量低,从而导致修复时间长,修复缓慢^[64];微生物修复也存在上述的问题。植物与微生物联合修复可能会提高修复效率,并且微生物的分泌物可以发挥改变重金属离子价态和固定重金属的作用,以达到保护植物和修复土壤的目标。AM作为一种广泛分布在植物-微生物中的共生体,具有调节植株对重金属吸附和转运的重要作用^[65],进而降低重金属在土壤的含量,以达到土壤修复的目的。例如,AMF细胞壁的组成中含有游离的氨基、羧基和羟基等,是AM共生体中 Cu^{2+} 的结合位点^[66]。蛋白质可以与 Cu^{2+} 等金属结合,作为细胞壁外结合金属元素的主要成分^[67]。因此,GRSP作为一种在土壤中提取的AMF相关蛋白,将在修复重金属污染的土壤中起到重要作用。

研究表明,GRSP可以固定不同重金属,降低它们在生态系统中对土壤生物和植物的毒害作用以及潜在毒性^[40]。González-Chávez等^[68]研究英国德文康索尔矿山受金属污染土壤中GRSP时发现,在提取的T-GRSP、IRSP、EE-IRSP中,均检测到了重金属离子,并且每克GRSP中的重金属的含量分别为1.6~4.3 mg Cu, 0.02~0.08 mg Cd以及0.62~1.12 mg Pb。Cornejo等^[69]通过对受冶铜厂影响的地中海生态系统中土壤的GRSP与Cu的关系研究发现,在植物和根际区域中,GRSP的含量为6.6~36.8 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,Cu的总量为62~831 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,GRSP结合铜的范围为3.76~89.0 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$,占土壤总铜量的1.44%~27.5%。上述研究表明,GRSP与土壤中的重金属离子发生螯合作用,可以对土壤中潜在的重金属元素进行固定,为植物-微生物修复土壤技术提供了思路。

5 存在问题和挑战

早期对球囊霉素研究认为用Wright等^[9]经典方法从土壤中浸提的产物在经过考马斯亮蓝法和单克隆抗体酶联免疫法两重测定后的物质应该是球囊霉素,但用Wright经典方法从土壤中提取出的物质中仍有

非 AMF 来源的物质 (如腐殖酸等) 与上述的两种测定方法均可发生反应, 从而干扰对球囊霉素的测定。因此, 考马斯亮蓝法和单克隆抗体酶联免疫法不是测定球囊霉素的专一性方法, 而早期的研究者所进行的研究应该为球囊霉素和土壤中的其他有机物所共同表现出来的功能, 目前仍然没有特定的方法在不受其他物质干扰下来对球囊霉素进行定量分析, 这就引起了现在对球囊霉素命名混乱的现象。最近有研究认为, 将球囊霉素改名为 GRSP 的描述也不准确, 提议将这种用 Wright 经典法所提取出来的物质应该命名为柠檬酸盐提取土壤蛋白^[40], 但提取球囊霉素的过程中提取剂并非柠檬酸钠一种, 而且柠檬酸钠也并不是提取率最高的试剂, 这种命名方法并不恰当。在目前开展的研究中, 人们假定了 GRSP 与 AMF 之间的关系, 认为 GRSP 的产量与 AMF 的丰度相关, 将检测到的 GRSP 浓度归因于 AMF 的菌丝长度或 AMF 孢子密度, 但实际上有大量试验表明, GRSP 浓度与 AMF 丰度完全不相关^[70-71]。这可能是 GRSP 中的非 AMF 来源的物质所造成的影响, 因为 GRSP 中 AMF 产物的比例与非 AMF 产物的比例并不清楚, 二者对 GRSP 的贡献也是未知, 所以并不能说明 GRSP 浓度与 AMF 的丰度之间没有显著的相关关系^[40]。已经报道的 GRSP 在生态系统中的功能包括对土壤团聚作用、植物抗逆性和土壤污染修复等, 其发挥的作用是否来源于 GRSP 中的非 AMF 来源的蛋白, 目前还未证实。前文中提到, 植物根系中会产生蛋白, 并且土壤中一些细菌能分泌热稳定蛋白, 那么 GRSP 在维持土壤团聚体和碳库稳定性中的作用是否与 GRSP 中非 AMF 来源的成份相关, 目前并不确定。但 Wright 经典法的提取条件很为严苛 (高温高压下的连续提取), 不耐热的蛋白会被破坏, 因此, GRSP 中非 AMF 的成分可能含量较少, 所以这些细菌所分泌的热稳定蛋白可能是 GRSP 中非 AMF 来源的贡献者, 但作用可能不显著。在对 GRSP 进行研究时, 不应将其视为性质单一物质, 而应该作为一种混合物。GRSP 作为一种用提取方法命名的物质, 本身就存在一些不确定性。球囊霉素的具体产生过程是未知的, 球囊霉素是 AMF 主动分泌进入土壤中还是 AMF 死亡后菌丝裂解释放到土壤中, 以及 AMF 是否会通过胞外酶的作用将球囊霉素在体外进一步转化这些过程尚不清楚^[40], 但 AMF 自身生长以及产生分泌物所需营养物质 (C、N 等) 来源于其宿主植物是确定的。综上所述, 关于球囊霉素与 GRSP 的研究存在许多不明确的地方, 但是正因为存在这些问题, 才值得我们对以上的各个方向进行深入的研究和探讨。

6 展望

球囊霉素的提取技术仍然是限制发展的最大瓶颈, 未来可以寻找更加合适的专一性测定方法。随着计算机技术的发展, 现代仪器以及分子生物学技术发展更新速度非常快, 越来越多的高分辨率精密仪器和分子生物学技术被研制出来, 精密仪器比如傅里叶变换离子回旋共振质谱仪 (FI-ICR-MS)^[72]、核磁共振 (NMR) 以及扫描电子显微镜 (SEM) 等^[73], 分子生物学技术比如单分子实时 DNA 测序技术, 稳定性同位素测序以及纳米二次离子质谱技术等^[74], 可以通过这些技术手段来对 AMF 更加精准的分类, 对球囊霉素的微观结构进行观测以及推测蛋白质的结构。如果可以对 AMF 进行离体纯培养, 排除土壤中其他物质对球囊霉素的干扰, 将会极大的降低对球囊霉素的研究难度, 为球囊霉素在生态系统中的作用提供直接性的证据, 从而为进一步促进将球囊霉素作为土壤有机质中的常规分析指标提供科学依据。

参考文献 (References):

- [1] 王宇涛, 辛国荣, 李韶山. 丛枝菌根真菌最新分类系统与物种多样性研究概况 [J]. 生态学报, 2013, 33 (3): 834-843.
WANG Y T, XING G R, LI S S. An overview of the updated classification system and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi [J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33 (3): 834-843.
- [2] HARLEY J L. The significance of mycorrhiza [J]. Mycological Research, 1989, 92 (2): 129-139.

- [3] WANG B, QIU Y L. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants [J]. *Mycorrhiza*, 2006, 16 (5): 299–363.
- [4] STADDON P L, RAMSEY C B, OSTLE N, et al. Rapid turnover of hyphae of mycorrhizal fungi determined by AMS microanalysis of ¹⁴C [J]. *Science*, 2003, 300 (5622): 1138–1140.
- [5] REMY W, TAYLOR T N, HASS H, et al. Four hundred – million – year – old vesicular arbuscular mycorrhizae [J]. *PNAS*, 1994, 91 (25): 11841–11843.
- [6] SIMON L, BOUSQUET J, LEVESQUE R C, et al. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants [J]. *Nature*, 1993, 363 (6424): 67–69.
- [7] JEFFRIES P, GIANINAZZI S, PEROTTO S, et al. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2003, 37 (1): 1–16.
- [8] 冯固, 张福锁, 李晓林, 等. 丛枝菌根真菌在农业生产中的作用与调控 [J]. *土壤学报*, 2010, 47 (5): 995–1004.
FENG G, ZHANG F S, LI X L, et al. Functions of arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture and the manipulation [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2010, 47 (5): 995–1004.
- [9] WRIGHT S F, UPADHYAYA A. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi [J]. *Soil Science*, 1996, 161: 575–586.
- [10] ROSIER C L, HOYE A T, RILLIG M C. Glomalin – related soil protein: assessment of current detection and quantification tools [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38 (8): 2205–2211.
- [11] NICHOLS K A, WRIGHT S F. Carbon and nitrogen in operationally defined soil organic matter pools [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2006, 43 (2): 215–220.
- [12] WRIGHT S F, UPADHYAYA A. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi [J]. *Plant and Soil*, 1998, 198 (1): 97–107.
- [13] 田慧, 刘晓蕾, 盖京苹, 等. 球囊霉素及其作用研究进展 [J]. *土壤通报*, 2009, 40 (5): 1215–1220.
TIAN H, LIU X L, GAI J P, et al. Review of glomalin – related soil protein and its function [J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2009, 40 (5): 1215–1220.
- [14] WRIGHT S F, UPADHYAYA A, BUYER J S. Comparison of N – linked oligosaccharides of glomalin from arbuscular mycorrhizal fungi and soils by capillary electrophoresis [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30 (13): 1853–1857.
- [15] 王建, 周紫燕, 凌婉婷. 球囊霉素相关土壤蛋白的分布及环境功能研究进展 [J]. *应用生态学报*, 2016, 27 (2): 634–642.
WANG J, ZHOU Z Y, LING W T. Distribution and environmental function of glomalin – related soil protein: a review [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, 27 (2): 634–642.
- [16] BENDING G D, READ D J. Lignin and soluble phenolic degradation by ectomycorrhizal and ericoid mycorrhizal fungi [J]. *Mycological Research*, 1997, 101 (11): 1348–1354.
- [17] 郭良栋, 田春杰. 菌根真菌的碳氮循环功能研究进展 [J]. *微生物学通报*, 2013, 40 (1): 158–171.
GUO L D, TIAN C J. Progress of the function of mycorrhizal fungi in the cycle of carbon and nitrogen [J]. *Microbiology China*, 2013, 40 (1): 158–171.
- [18] GADKAR V, RILLIG M C. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin is a putative homolog of heat shock protein 60 [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2006, 263 (1): 93–101.
- [19] BOLLIGER A, NALLA A, MAGID J, et al. Re – examining the glomalin – purity of glomalin – related soil protein fractions through immunochemical, lectin – affinity and soil labelling experiments [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40 (4): 887–893.
- [20] RILLIG M C. Arbuscular mycorrhiza, glomalin, and soil aggregation [J]. *Canadian Journal of Soil Science*, 2004, 84: 355–363.
- [21] NICHOLS K A. Characterization of glomalin, a glycoprotein produced by arbuscular mycorrhizal fungi [D]. College Park: University of Maryland, 2003: 9–11.
- [22] LOVELOCK C E, WRIGHT S F, NICHOLS K A. Using glomalin as an indicator for arbuscular mycorrhizal hyphal growth: an example from a tropical rain forest soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36 (6): 1009–1012.
- [23] RILLIG M C, WRIGHT S F, NICHOLS K A, et al. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils [J]. *Plant and Soil*, 2001, 233 (2): 167–177.
- [24] SCHINDLER F V, MERCER E J, RICE J A. Chemical characteristics of glomalin – related soil protein (GRSP) extracted from soils of varying organic matter content [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39 (1): 320–329.
- [25] JANOS D P, GARAMSZEGI S, BELTRAN B. Glomalin extraction and measurement [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40 (3):

- 728 - 739.
- [26] BISSONNAIS Y. Aggregate stability and assessment of soil crustability and erodibility: I. theory and methodology [J]. European Journal of Soil Science, 1996, 47 (4): 425 - 437.
- [27] 尼尔·布雷迪, 雷·韦尔. 土壤学与生活 [M]. 北京: 科学出版社, 2019: 130 - 132.
BRADY N C, WEIL R R. The nature and properties of soils [M]. Beijing: Science Press, 2019: 130 - 132.
- [28] 杜介方. 施肥对土壤团聚体分布及其中球囊霉素的影响 [D]. 大连: 大连交通大学, 2010: 2 - 4.
DU J F. Effects of fertilization treatments on the distribution of soil aggregates and glomalin [D]. Dalian: Dalian Jiaotong University, 2010: 2 - 4.
- [29] MILLERET R, LE BAYON R C, GOBAT J M. Root, mycorrhiza and earthworm interactions: their effects on soil structuring processes, plant and soil nutrient concentration and plant biomass [J]. Plant and Soil, 2009, 316 (1/2): 1 - 12.
- [30] 纪玲玲. AM真菌驱动的土壤团聚体形成过程与稳定机制 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2020: 23 - 25.
JI L L. The formation and stabilization mechanisms of soil aggregates driven by arbuscular mycorrhizal fungi [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020: 23 - 25.
- [31] STOCKINGER H, WALKER C, SCHUBIER A. 'Glomus intraradices DAOM197198', a model fungus in arbuscular mycorrhiza research, is not Glomus intraradices [J]. New Phytologist, 2009, 183 (4): 1176 - 1187.
- [32] FEENEY D S, PAUL D HALLETT T D, KARL RITZ J I, et al. Does the presence of glomalin relate to reduced water infiltration through hydrophobicity? [J]. Canadian Journal of Soil Science, 2004, 84 (4): 365 - 372.
- [33] WANG P, WANG Y, SHU B, et al. Relationships between arbuscular mycorrhizal symbiosis and soil fertility factors in *Citrus* orchards along an altitudinal gradient [J]. Pedosphere, 2015, 25 (1): 160 - 168.
- [34] 景航, 史君怡, 王国梁, 等. 皆伐油松林不同恢复措施下团聚体与球囊霉素分布特征 [J]. 中国环境科学, 2017, 37 (8): 3056 - 3063.
JING H, SHI J Y, WANG G L, et al. Distribution of the glomalin - related soil protein and aggregate fractions in different restoration communities after clear - cutting *Pinus tabulaeformis* plantation [J]. China Environmental Science, 2017, 37 (8): 3056 - 3063.
- [35] 肖玖军, 邢丹, 毛明明, 等. AM真菌对桑树根围土壤团聚体的影响机制 [J]. 土壤学报, 2020, 57 (3): 773 - 782.
XIAO J J, XING D, MAO M M, et al. Mechanism of arbuscular mycorrhizal fungal affecting soil aggregates in rhizosphere of mulberry (*Morus alba*) [J]. Acta Pedologica Sinica, 2020, 57 (3): 773 - 782.
- [36] 钟思远, 张静, 褚国伟, 等. 南亚热带森林丛枝菌根真菌与土壤结构的关系 [J]. 生态科学, 2018, 37 (5): 16 - 24.
ZHONG S Y, ZHANG J, CHU G W, et al. The relationship between arbuscular mycorrhizal fungi and soil structure in southern subtropical forest [J]. Ecological Science, 2018, 37 (5): 16 - 24.
- [37] 彭思利, 申鸿, 张宇亭, 等. 不同丛枝菌根真菌侵染对土壤结构的影响 [J]. 生态学报, 2012, 32 (3): 863 - 870.
PENG S L, SHEN H, ZHANG Y T, et al. Compare different effect of arbuscular mycorrhizal colonization on soil structure [J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32 (3): 863 - 870.
- [38] GILLESPIE A W, FARRELL R E, WALLEY F L, et al. Glomalin - related soil protein contains non - mycorrhizal - related heat - stable proteins, lipids and humic materials [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2011, 43 (4), 766 - 777.
- [39] TISDALL J M, OADES J M. Organic matter and water - stable aggregates in soils [J]. Journal of Soil Science, 1982, 33 (2): 141 - 163.
- [40] HOLATKO J, BRTNICKY M, KUCERIK J, et al. Glomalin - truths, myths, and the future of this elusive soil glycoprotein [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2021, 153 (5): 108116.
- [41] PAUL E A, KUCEY R M N. Carbon flow in plant microbial associations [J]. Science, 1981, 213 (4506): 473 - 474.
- [42] JAKOBSEN I, ROSENDAHL L. Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants [J]. New Phytologist, 1990, 115 (1): 77 - 83.
- [43] HARLEY J L, HARLEY E L. A check - list of mycorrhiza in the British flora [J]. New Phytologist, 1987, 105 (S1): 1 - 102.
- [44] 郭良栋. 中国微生物物种多样性研究进展 [J]. 生物多样性, 2012, 20 (5): 572 - 580.
GUO L D. Progress of microbial species diversity research in China [J]. Biodiversity Science, 2012, 20 (5): 572 - 580.
- [45] 李元敬, 刘智蕾, 何兴元, 等. 丛枝菌根共生体中碳、氮代谢及其相互关系 [J]. 应用生态学报, 2014, 25 (3): 903 - 910.
LI Y J, LIU Z L, HE X Y, et al. Metabolism and interaction of C and N in the arbuscular mycorrhizal symbiosis [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2014, 25 (3): 903 - 910.
- [46] LOVELOCK C E, WRIGHT S F, CLARK D A, et al. Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain

- forest landscape [J]. *Journal of Ecology*, 2004, 92 (2): 278–287.
- [47] 权常欣, 马玲玲, 林钊凯, 等. 广东省森林球囊霉素相关土壤蛋白含量及影响因素 [J]. *生态环境学报*, 2020, 29 (2): 240–249.
- QUAN C X, MA L L, LIN Z K, et al. Patterns and influence factors of glomalin-related soil protein in Guangdong forests [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2020, 29 (2): 240–249.
- [48] 唐宏亮, 刘龙, 王莉, 等. 土地利用方式对球囊霉素土层分布的影响 [J]. *中国生态农业学报*, 2009, 17 (6): 1137–1142.
- TANG H L, LIU L, WANG L, et al. Effect of land use type on profile distribution of glomalin [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2009, 17 (6): 1137–1142.
- [49] 阙弘, 葛阳洋, 康福星, 等. 南京典型利用方式土壤中球囊霉素含量及剖面分布特征 [J]. *土壤*, 2015, 47 (4): 719–724.
- QUE H, GE Y Y, KANG F X, et al. Content and distribution of glomalin-related soil protein in soils of Nanjing under different land use types [J]. *Soils*, 2015, 47 (4): 719–724.
- [50] 王诚煜, 冯海艳, 杨忠芳, 等. 内蒙古中北部球囊霉素相关土壤蛋白的分布及其环境影响 [J]. *干旱区研究*, 2013, 30 (1): 22–28.
- WANG C Y, FENG H Y, YANG Z F, et al. Glomalin-related soil protein distribution and its environmental affecting factors in the north-east Inner Mongolia [J]. *Arid Zone Research*, 2013, 30 (1): 22–28.
- [51] 贺学礼, 陈程, 何博. 北方两省农牧交错带沙棘根围 AM 真菌与球囊霉素空间分布 [J]. *生态学报*, 2011, 31 (6): 1653–1661.
- HE X L, CHEN C, HE B. Spatial distribution of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin of *Hippophae rhamnoides* L in farming-pastoral zone from the two northern provinces of China [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31 (6): 1653–1661.
- [52] WANG X X, VINOCUR B, ALTMAN A. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance [J]. *Planta*, 2003, 218 (1): 1–14.
- [53] LEVY Y, DODD J, KRIKUN J. Effect of irrigation, water salinity and rootstock on the vertical distribution of vesicular-arbuscular mycorrhiza in *Citrus* roots [J]. *New Phytologist*, 1983, 95 (3): 397–403.
- [54] CLARK R B, ZETO S K. Mineral acquisition by arbuscular mycorrhizal plants [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2000, 23 (7): 867–902.
- [55] BERRECKCK M, HASELWANDTER K. Effect of the arbuscular mycorrhizal symbiosis upon uptake of cesium and other cations by plants [J]. *Mycorrhiza*, 2001, 10 (6): 275–280.
- [56] FELLBAUM C R, MENSAH J A, CLOOS A J, et al. Fungal nutrient allocation in common mycorrhizal networks is regulated by the carbon source strength of individual host plants [J]. *New Phytologist*, 2014, 203 (2): 646–656.
- [57] BUCKING H, KAFLE A. Role of arbuscular mycorrhizal fungi in the nitrogen uptake of plants: current knowledge and research gaps [J]. *Agronomy*, 2015, 5 (4): 587–612.
- [58] KAFLE A, GARCIA K, WANG X R, et al. Nutrient demand and fungal access to resources control the carbon allocation to the symbiotic partners in tripartite interactions of *Medicago truncatula* [J]. *Plant, Cell and Environment*, 2019, 42 (1): 270–284.
- [59] HAMMER E C, RILLIG M C. The influence of different stresses on glomalin levels in an arbuscular mycorrhizal fungus—salinity increases glomalin content [J]. *PLoS One*, 2011, 6 (12): e28426.
- [60] 贺学礼, 高露, 赵丽莉. 水分胁迫下丛枝菌根 AM 真菌对民勤绢蒿生长与抗旱性的影响 [J]. *生态学报*, 2011, 31 (4): 1029–1037.
- HE X L, GAO L, ZHAO L L. Effects of AM fungi on the growth and drought resistance of *Seriphidium minchinense* under water stress [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31 (4): 1029–1037.
- [61] 叶佳舒, 李涛, 胡亚军, 等. 干旱条件下 AM 真菌对植物生长和土壤水稳定性团聚体的影响 [J]. *生态学报*, 2013, 33 (4): 1080–1090.
- YE J S, LI T, HU Y J, et al. Influences of AM fungi on plant growth and water-stable soil aggregates under drought stresses [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33 (4): 1080–1090.
- [62] HE B, YUN Z J, SHI J B, et al. Research progress of heavy metal pollution in China: sources, analytical methods, status, and toxicity [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2013, 58 (2): 134–140.
- [63] 黄昌勇, 徐建明. 土壤学 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2010: 241–242.
- HUANG C Y, XU J M. Soil science [M]. 3rd ed. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2010: 241–242.
- [64] ALI H, KHAN E, SAJAD M A. Phytoremediation of heavy metals – concepts and applications [J]. *Chemosphere*, 2013, 91 (7): 869–881.

- [65] 申鸿, 刘于, 李晓林, 等. 丛枝菌根真菌 (*Glomus caledonium*) 对铜污染土壤生物修复机理初探 [J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11 (2): 199-204.
SHEN H, LIU Y, LI X L, et al. Influence of arbuscular mycorrhizal fungus on maize seedlings grown in copper contaminated soil [J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers Science, 2005, 11 (2): 199-204.
- [66] ZHOU J L. Zn biosorption by *Rhizopusarrhizus* and other fungi [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1999, 51 (5): 686-693.
- [67] BHAT P N, PILLAI K C. Beryllium in environmental air, water and soil [J]. Water, Air, and Soil Pollution, 1997, 95 (1/4): 133-146.
- [68] GONZÁLEZ-CHÁVEZ M C, CARRILLO-GONZALEZ R, WRIGHT S F, et al. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements [J]. Environmental Pollution, 2004, 130 (3): 317-323.
- [69] CORNEJO P, MEIER S, BORIE G, et al. Glomalin-related soil protein in a Mediterranean ecosystem affected by a copper smelter and its contribution to Cu and Zn sequestration [J]. Science of the Total Environment, 2008, 406 (1/2): 154-160.
- [70] SCHINDLER F V, MERCER E J, RICE J A. Chemical characteristics of glomalin-related soil protein (GRSP) extracted from soils of varying organic matter content [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39 (1): 320-329.
- [71] WHIFFEN L K, MIDGLEY D J, MCGEE P A. Polyphenolic compounds interfere with quantification of protein in soil extracts using the Bradford method [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39 (2): 691-694.
- [72] 陈旭, 韩晓增, 严君, 等. 基于傅里叶变换离子回旋共振质谱测定的土壤溶解性有机质研究进展 [J]. 土壤通报, 2019, 50 (3): 732-738.
CHEN X, HAN X Z, YAN J, et al. Review on soil dissolved organic matter determined with Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry [J]. Chinese Journal of Soil Science, 2019, 50 (3): 732-738.
- [73] 成凯. 复杂环境下蛋白质结构、功能与稳定性的 NMR 研究 [D]. 武汉: 中国科学院大学 (中国科学院武汉物理与数学研究所), 2017: 23-25.
CHENG K. Protein structure, function and stability in complex environment studied by NMR [D]. Wuhan: University of Chinese Academy of Science (Wuhan Institute of Physics and Mathematics, Chinese Academy of Science), 2017: 23-25.
- [74] 胡行伟, 张丽梅, 贺纪正. 纳米二次离子质谱技术 (NanoSIMS) 在微生物生态学研究中的应用 [J]. 生态学报, 2013, 33 (2): 348-357.
HU X W, ZHANG L M, HE J Z. Application of nano-scale secondary ion mass spectrometry to microbial ecology study [J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33 (2): 348-357.