

培养基质对丛枝菌根(AM)真菌生长发育的影响

陈 宁^{1,2}, 王幼珊², 蒋家珍³, 杨延杰¹, 林 多¹, 仇宏伟¹, 张美庆²

(1. 青岛农业大学园艺学院, 青岛 266109; 2. 北京市农林科学院植物营养与资源研究所, 北京 100089;
3. 中国农业大学理学院, 北京 10094)

摘 要: 温室条件下, 以盆栽培养方法研究不同培养基质对丛枝菌根(Arbuscular Mycorrhizae, AM)真菌 *Glomus mosseae* 生长发育的影响。结果表明: 不同理化性质的基质对菌根共生体生长发育的影响不同, 综合考虑菌根长度、根外菌丝量及孢子数 3 项指标, 以沙土混合物(体积比 3:1)对 *G. mosseae* 菌剂的生长发育最为有利。宿主植物菌根长度及根中的可溶性糖浓度与根外孢子数有正相关关系, 而宿主植物中磷浓度与菌根真菌的生长发育也有类似的关系。说明培养基质的养分状况、水分状况、通气状况等诸多因素都会影响菌根共生体的建立和发展。宿主植物的菌根长度、根中可溶性糖浓度以及宿主植物磷浓度对菌根真菌的生长发育有显著影响。因此, 工厂化 AM 菌剂生产中, 应以沙土混合物(体积比 3:1)为生产 *G. mosseae* 菌剂的培养基质。

关键词: 培养基质; 丛枝菌根(AM)真菌; 侵染率; 菌丝量; 孢子数

中图分类号: Q93-335

文献标识码: B

文章编号: 1002-6819(2007)9-0205-03

陈 宁, 王幼珊, 蒋家珍, 等. 培养基质对丛枝菌根(AM)真菌生长发育的影响[J]. 农业工程学报, 2007, 23(9): 205-207.

Chen Ning, Wang Youshan, Jiang Jiazheng, et al. Effects of culture substrates on development of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Transactions of the CSAE, 2007, 23(9): 205-207. (in Chinese with English abstract)

0 引言

丛枝菌根(Arbuscular Mycorrhizae, AM)是自然界中普遍存在的植物与真菌的共生体, 菌根真菌作为生物肥料、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的重要意义愈来愈为人们所重视^[1]。由于工厂化商业 AM 菌剂的生产在中国刚刚起步, 因此, 开展对 AM 菌剂温室工厂化生产技术的研究对中国的农业生产、环境保护具有深远的意义。

AM 菌剂质量的评价指标主要是菌剂的侵染能力。侵染根段、菌丝、孢子都具有侵染能力, 通常认为三者数量越多其侵染能力越强。目前在 AM 菌剂的生产中, 盆栽培养法仍是一种最传统最经济的方法。在丛枝菌根真菌盆栽培养体系中, 培养基质的选择历来为研究者所关注, 有关这方面的研究国外有些报道, 而且也筛选出对某些特定宿主-真菌共生体适用的基质^[2,3], 中国的研究尚处于起步阶段^[4]。要建立一套适合当地生产优质 AM 菌剂的盆栽培养体系, 基质的选择是成功的重要基础, 也是必须首先解决的关键问题。本试验在温室条件下, 用盆栽培养方法, 以 *G. mosseae* 作为菌种, 接种已筛选出的适宜宿主高粱, 分别在以沙、壤土、沸石 3 种原料配制成的 4 种基质中进行菌剂培养, 探讨不同基质对 AM 真菌生长发育的影响, 进而筛选出生产优质 *G. mosseae* 菌剂的适宜基质, 为优质 AM 菌剂生产体系的建立提供技术参数和理论指导。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试宿主植物为高粱(*Sorghum vulgare* Pers., 敖杂一号), 由北京市种子公司提供。菌种为 *G. mosseae* 93, 由北京市农林科学院植物营养与资源研究所微生物室提供, 接种剂为以高粱为宿主扩大繁殖获得的内含供试菌种孢子, 被侵染根段及根外菌丝的土沙混合物。

1.2 试验设计及方法

试验在北京市农林科学院组织培养温室内进行, 设 4 个处理: ①混合沙(1号): 沙粒直径(2~0.8 mm: 0.8~0.25 mm: <0.25 mm)=20:60:20(体积比), 采自北京市卢沟桥附近永定河床。②细沙(2号): 沙粒直径小于 0.25 mm, 采自北京市卢沟桥附近永定河河床。③沸石(3号): 购于河北省独石口乡沸石厂。④沙土混合物(4号): 沙土体积比为 3:1, 其中河沙采自北京市卢沟桥附近永定河河床, 壤土采自北京市农林科学院小麦试验田。

接种前基质 100℃ 间歇灭菌两次。采用容积为 3 L 塑料盆作为培养容器, 接种前用“84 消毒液”消毒。高粱种子用 40% 甲醛稀释 100 倍液浸泡 15 min, 28℃ 催芽, 70% 种子露白即播种。播种时, 每盆先装基质 2 kg, 然后将接种剂 30 g 层铺其上, 并与基质混匀, 再播种, 覆基质 0.5 kg, 出苗 1 周后定苗(每盆 15 株)。试验期间根据需要浇水及 Hoagland 营养液。

1.3 样品分析及测定

播种后第 8 周、12 周、16 周在盆面均匀选 3 个点打孔取样(孔径 2 cm), 测定菌根侵染率、根外菌丝量及孢子数^[5-7]。16 周培养结束时分别收获地上部和地下部, 清洗根系, 取样测定菌根侵染率及植物根长^[8]之后, 将样品烘干, 称取干质量。经烘干的植株地上部和根系粉碎后测定样品中氮(H₂SO₄-H₂O₂比色法)、磷(钼钒黄比色法)及可溶性糖含量(蒽酮比色法)。菌根长

收稿日期: 2006-12-15 修订日期: 2007-08-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30070028); 农业部引进项目(201058); 莱阳农学院博士基金(630306)

作者简介: 陈宁(1964-), 男, 山东荣成人, 博士, 副教授, 主要从事蔬菜生理及植物营养方面的研究工作。青岛 青岛农业大学园艺学院, 266109。Email: chenning@qau.edu.cn

度为根系总长与宿主植物菌根侵染率的乘积。

应用 SAS 软件对试验数据进行统计分析,5% 水平下 LSD 多重比较检验各处理平均值之间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同基质的理化性状

不同基质养分含量不同(表 1),总体看来各基质养分都较贫乏,其差异主要表现在有机质、速效磷、速效钾上:4 号基质有机质含量较高,其次是 3 号,1 号、2 号基质最低;速效磷含量 4 号基质较高,1 号、2 号次之,3 号最低;速效钾含量 3 号基质最高,其次是 4 号,1 号、2 号最低;4 种基质的酸碱度相差不大,pH 值大体在 8.30~ 8.90 之间。

表 1 基质的基本理化性状

Table 1 Chemical and physical properties of different substrates

基质	有机质 /g · kg ⁻¹	全磷 /g · kg ⁻¹	全钾 /g · kg ⁻¹	速效磷 /mg · kg ⁻¹	速效钾 /mg · kg ⁻¹	pH 值 (水浸)
1 号	2.25	0.321	18.00	5.19	60.00	8.30
2 号	2.25	0.321	18.00	5.19	60.00	8.30
3 号	2.68	0.075	17.50	0.93	235.0	8.90
4 号	8.28	0.547	18.30	15.90	94.00	8.51

2.2 宿主高粱的生长状况

不同处理宿主高粱的生长状况表现出一定的差异(表 2),4 号处理宿主高粱地上部、地下部干质量显著高于其它 3 个处理。其次为 3 号,最低为 1 号、2 号。由于地上部及地下部生物量不一致,根冠比发生变化,其中以 1 号、2 号处理宿主高粱的根冠比较高,3 号、4 号处理较低,说明 3 号、4 号基质对宿主高粱地上部生长较为有利,1 号、2 号基质对宿主高粱生长较为不利。菌根长度测定结果表明:4 号处理菌根长度显著高于其它处理,其它处理宿主高粱菌根长度虽有一定差异,但未达显著水平。

表 2 不同基质处理宿主高粱生物量

Table 2 Biomass of host plants under different substrate treatments

基质	地上部干质量 (每盆)/g	地下部干质量 (每盆)/g	菌根长度 (每盆)/m	根冠比
1 号	5.15c	2.43b	89.69b	0.47a
2 号	5.43c	2.41b	72.72b	0.44a
3 号	7.79b	2.80ab	75.79b	0.36b
4 号	9.43a	3.27a	121.25a	0.35b

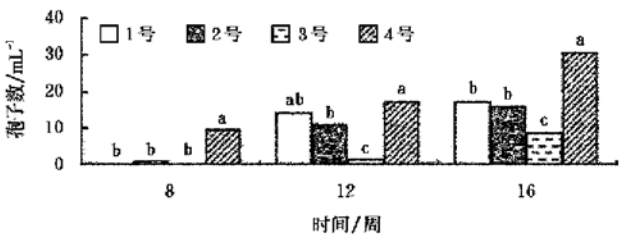
注:同一列中不含相同字母表示差异达到 5% 显著水平(下同)。

2.3 AM 真菌生长发育状况

由图 1 看出:AM 菌根真菌产孢量明显受到栽培基质的影响。所有处理的真菌产孢量均随培养时间延长而增加,到 16 周盆栽培养结束时,孢子数达最大值。不同处理真菌的产孢量不同,4 号处理产孢较多,1 号、2 号处理次之,3 号处理最少,这表明 4 号基质对 AM 真菌生长发育尤其是孢子的生长最为有利。

培养基质对 AM 真菌根外菌丝的生长发育影响很大(图 2)。所有处理中的菌丝量都随培养时间的延长而增加,到第 16 周盆栽培养结束时,基质中的菌丝量达最大值。各处理间在不同时期表现出不同的差异,总体看来,3 号处理中的菌丝量最高,4 号次

之,1 号、2 号最低,这表明 3 号基质对 AM 真菌生长发育尤其是菌丝的生长最为有利。



注:同一时间不含相同字母表示差异达到 5% 水平显著(下同)

图 1 不同基质中孢子数

Fig. 1 Spore number in different substrates

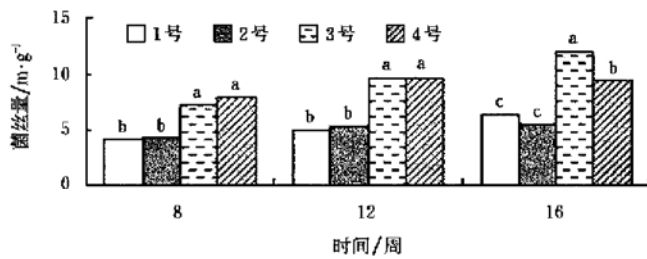


图 2 不同基质中菌丝量

Fig. 2 Length of hyphae in different substrates

培养基质不同,各时期菌根侵染率差异不显著,但各时期仍能表现出同样的趋势,总体看来,3 号、4 号处理菌根侵染率稍高,1 号、2 号处理稍低(图略)。本试验中,基质中孢子数及菌丝量都有随菌剂培养时期的延长而增加的趋势,到培养结束达最大值,而菌根侵染率则不同,表现为第 12 周达最大值,第 16 周培养结束时有所下降,而且不同基质中下降的幅度各不相同,4 号下降 10%,1 号下降 11%,2 号下降 14%,下降最大的是 3 号为 22%。

2.4 宿主植物的营养状况

不同基质对宿主植物中磷的吸收有一定影响,且表现出一定差异(表 3),总体上地上部及地下部都以 4 号处理宿主植物的磷含量较高,1 号次之,2 号、3 号较低。

表 3 不同基质处理宿主植物可溶性糖、氮、磷浓度

Table 3 Soluble sugar, N and P concentrations of host plants under different substrate treatments %

处理	可溶性糖浓度		氮浓度		磷浓度	
	地下部	地上部	地下部	地上部	地下部	地上部
1 号	3.50c	3.75c	0.62b	0.58b	0.10a	0.07b
2 号	4.86b	5.85b	0.44c	0.57b	0.07b	0.06b
3 号	3.09c	3.44c	0.80a	1.13a	0.05b	0.05b
4 号	7.43a	7.67a	0.52bc	0.52b	0.09a	0.16a

不同基质中宿主植物的氮浓度存在一定差异,地下部以 3 号处理宿主植物显著高于其它处理,其次为 1 号,而其它两种处理虽有差异但不显著,地上部仍然是 3 号处理的宿主植物显著高于其它 3 种处理,其它 3 种处理差异不显著。宿主植物中的可溶性糖浓度明显受到培养基质的影响,地上部及地下部都表现

为4号显著高于其它3个处理,其次为2号,1号、3号最低,且差异不显著。

3 结论与讨论

土壤养分含量过高或过低都会降低菌根的侵染率及其在土壤中繁殖的数量。土壤有机质含量对丛枝菌根真菌的生长发育有一定影响,在一定范围内丛枝菌根真菌的数量随有机质含量的升高而增多,但当有机质含量超过一定范围,丛枝菌根真菌的数量就会下降^[9]。本试验所用的4种基质都属于贫养分基质,比较之下4号基质养分含量最高。在其培养下的宿主植物的生物量及真菌产孢量最高。说明试验中所用基质的养分含量并没超出限制丛枝菌根真菌生长发育的范围,因此在选定基质以后,应进一步增加基质中的养分,促进宿主植物的生长,以促进菌根真菌的生长发育。

基质中的通气状况、水分状况对菌根真菌生长发育影响很大^[10]。相比之下,1号基质粒径较大,通气状况良好,但保水能力较差,2号基质则相反,保水能力较好,通气状况较差,在试验过程中,1号基质缺水、2号基质水分过多从而通气不良的情况时有发生,这可能是造成以上两种基质宿主植物菌根真菌共生体生长发育不良的主要原因。3号基质沸石是一种具多孔结构的铝硅酸盐矿物,具有很好的通气保水功能。试验结果,它的根外菌丝量虽然很高,但产孢量较低。其主要原因在试验过程中,容器中的上半部基质极易干燥,而下半部经常处于水分饱和状态,从而影响了孢子的形成。4号基质是以1号基质为基础添加了部分土壤(沙土体积比为3:1),提高了保水能力,有利于宿主植物菌根共生体的生长发育。

宿主植物中可溶性糖浓度及菌根长度与菌根真菌的生长发育密切相关,本试验结果显示,在衡量菌根真菌生长发育的3项指标中,以孢子的生长发育与宿主植物地下部及地上部可溶性糖浓度及菌根长度最为密切,这意味着在综合影响因素条件下,菌丝的生长发育受外界因素影响更大一些,孢子形成受外界因素影响要小一些。此外宿主植物中磷的浓度与菌根真菌生长发育也有类似的关系,说明试验中磷的供应并没有超过抑制菌根

真菌生长发育的临界水平。

评价AM菌剂质量的指标主要是菌剂的侵染能力。侵染根段、菌丝、孢子都具有侵染能力,通常认为三者数量越多其侵染能力越强。综合菌根长度、孢子数及根外菌丝量3项指标的试验结果,沙土混合物(体积比3:1)是以高粱作为宿主植物进行*G. mosseae*菌剂生产的适宜的培养基质。

[参 考 文 献]

- [1] 刘润进,李晓林. 丛枝菌根及其应用[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 1- 224.
- [2] Feldmann F, Idezak E. Inoculation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for use in tropical nurseries[A]. Norris J R, Read D J, Varma A K. Techniques for Mycorrhizal Research[M]. London: Academic Press, 1992: 799- 817.
- [3] Sreenivasa M N, Bagyaraj D J. Selection of a suitable substrate for mass multiplication of *Glomus fasciculatum* [J]. Plant Soil, 2000, 109: 125- 127.
- [4] 王幼珊,刘相梅,张美庆,等. 盆栽基质及营养液对AM真菌接种剂繁殖的影响[J]. 华北农学报, 2001, 16(4): 81- 86.
- [5] Phillips J M, Hayman D S. Improved procedures for clearing and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection[J]. Trans Br Mycol Soc, 1970, 55: 158- 161.
- [6] Abbott L K, Robson A D, De Boer G. The effect of phosphorus on the formation of hyphae in soil by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus fasciculatum* [J]. New Phytol, 1984, 97: 437- 446.
- [7] Gerdemann J W, Nicolson T H. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting[J]. Trans Br Mycol Soc, 1963, 46: 235- 244.
- [8] 吴毅文. 根和根际的植物营养研究方法[A]. 毛达如, 植物营养研究方法[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1994: 1- 370.
- [9] 李晓林,冯 固. 丛枝菌根生态生理[M]. 北京: 华文出版社, 2001: 1- 358.
- [10] Saif S R. The influence of soil aeration on the efficiency of VA mycorrhizae. I. Effect of soil oxygen on the growth and mineral uptake of *Eupatorium orodoratum* L. Inoculated with *Glomus macrocarpum* [J]. New phytol, 1981, 88: 649- 659.

Effects of culture substrates on development of arbuscular mycorrhizal fungi

Chen Ning^{1,2}, Wang Youshan², Jiang Jiazhen³, Yang Yanjie¹, Lin Duo¹, Qiu Hongwei¹, Zhang Meiqing²

(1. Horticulture College, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China; 2. Institute of Plant

Nutrition and Resources, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100089, China;

3. College of Science, China Agricultural University, Beijing 10094, China)

Abstract: Four different culture substrates (mixing sand, fine sand, zeolite, mixture of sand and soil) on the growth of arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* were studied. The results showed that different substrates with different physical and chemical properties influence the development of *Glomus mosseae*. On the basis of the length of colonized roots, length of external hyphae and spore numbers, the mixture of sand and soil (v/v 3:1) achieved the greatest mycorrhizal development among the four culture substrates tested in association with *G. mosseae*. The length of colonized roots and the concentration of soluble sugar in roots were significantly and positively correlated with spore numbers in substrate. The concentration of P in host plant had the same relationship with the spore numbers. The results suggest that many factors of culture substrate such as nutrient, humidity, air capacity of soils and so on influence the establishment and development of host plant-fungi combinations. The length of colonized roots, the concentration of soluble sugar in roots and the concentration of P in host plant have great influence on the mycorrhizal development.

Key words: culture substrates; root colonization; length of hyphae; spore numbers