

盆栽基质及营养液对 AM 真菌接种剂繁殖的影响

王幼珊¹, 刘相梅², 张美庆¹, 邢礼军¹

(1. 北京市农林科学院植物营养与资源研究所, 北京 100089; 2. 中国科学院广州地球化学所, 广东 广州 510640)

摘要: 研究了 AM 真菌盆栽培养方法最佳培养基质的筛选和营养液施用对 *G. mosseae* 生长繁殖的影响。结果表明: 基质 JIII(壤土、混合沙体积比为 1:1)和 JI(混合沙、壤土、蛭石、沸石体积比为 2:1:1:1)的 AM 真菌繁殖效果最好, 筛选为最佳培养基质。营养液施用试验中, 基质 JI 宿主为高粱和白三叶草不施营养液, 及基质 J0 宿主为白三叶草每 30 d 施一次 1/10 浓度 Hongland 营养液的 2 个处理孢子数均高于其他处理。即培养基质中速效磷的含量在 10 mg/kg 左右对 *G. mosseae* 孢子的生成最有利, 过多或过少会起抑制作用。

关键词: AM 真菌; *G. mosseae*; 基质; 营养液

中图分类号: S154.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7091(2001)04-0081-06

AM 真菌是一种严格意义上的内生共生菌, 不能离体培养, 只能通过与植物共生的方法进行繁殖。其繁殖主要有以下几种方法: 盆钵培养法、营养薄层法、静水培养法、气雾培养法、根器官培养法、玻璃珠培养法等。其中盆栽方法是最传统最经典的方法, 发展较成熟, 目前仍然作为 AM 菌剂繁殖及商业化生产的基本方法^[1]。由于盆栽的温室培养需要经历一个较长的时间(4~5 个月), 容易受到多种因素的影响, 如宿主、基质、光照、温度、湿度、肥料(营养状况)、农药、盆钵大小、修剪、温室卫生状况等^[2]。其中基质作为繁殖菌种和宿主培养的载体是最关键的影响因素, 而营养液的施用是与基质密切相关的, 他们不仅要为宿主植物正常生长提供养分, 还应有利于真菌的生长和繁殖体的形成。本试验旨在筛选最佳盆栽基质的同时, 研究营养液的施用, 及其对 AM 真菌生长繁殖的影响, 从而为 AM 菌剂的生产提供有利的依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 菌种 *G. mosseae* 93, *G. mosseae* 91, 由北京市农林科学院植物营养与资源所微生物室提供, 通过白三叶草繁殖。

1.1.2 供试植物 高粱 *Sorghum vulgare* Pers., 白三叶草 *Trifolium repens* L.

1.1.3 基质 JI: 混合沙、壤土 I、蛭石、沸石体积比为 2:1:1:1; JII: 珍珠岩、蛭石、

收稿日期: 2000-10-16

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目(6972006)

作者简介: 王幼珊(1963-), 女, 副研究员, 硕士, 主要从事 AM 真菌和土壤微生物方面的研究工作。

壤土 I 体积比为 1∶1∶1; J III: 壤土 I、混合沙体积比为 1∶1; J IV: 混合沙为直径 2~0.8 mm、0.8~0.25 mm、<0.25 mm 的沙以 12∶70∶18 的体积比混合; J V: 混合沙、草炭、蛭石体积比为 2∶1∶2; J0: 混合沙、沸石体积比为 5∶1; J1: 壤土 II、混合沙体积比为 1∶1。壤土 I 和壤土 II 均采自北京市农科院小麦试验田。不同基质的基本农化性状见表 1。

表 1 基质的基本农化性状

基质	有机质 (mg/g)	全氮 (mg/g)	全磷 (mg/g)	全钾 (mg/g)	速效磷 (mg/kg)	速效钾 (mg/kg)
J I	3.14	0.078	3.058	26.12	8.94	158.44
J II	4.27	0.129	0.760	21.57	11.54	81.13
J III	6.33	0.193	0.760	16.90	13.15	60.30
J IV	2.66	—	0.65	17.00	1.10	22.60
J V	123.22	5.81	1.18	25.09	14.86	81.44
J0	2.41	—	0.577	17.13	1.14	52.03
J1	8.76	0.34	0.726	16.85	10.75	62.90

1.1.4 试验器皿 白色塑料盆，上口直径为 14 cm，下口直径为 10 cm，高为 12 cm。

1.1.5 试验地点 北京市农林科学院细胞所温室。

1.2 试验方案

试验 I 培养基质的筛选：接种 *G. mosseae* 91，以白三叶草为宿主。设 J I、J II、J III、J IV、J V 共 5 种基质处理，每个处理 6 次重复。

试验 II 营养液施用对 *G. mosseae* 生长繁殖的影响：接种 *G. mosseae* 93，采用基质 J0 和 J1，以高粱和白三叶草为宿主。采用 Hongland 营养液，设 3 个浓度，2 个施浇时间，分别为①H0：不施营养液，②H5-30：每 30 d 施一次 1/5 浓度 Hongland 营养液，③H5-15：每 15 d 施一次 1/5 浓度 Hongland 营养液，④H10-30：每 30 d 施一次 1/10 浓度 Hongland 营养液，⑤H10-15：每 15 d 施一次 1/10 浓度 Hongland 营养液，以上每次施用 30 mL/盆，每个处理 3 次重复，共 15 个处理。

1.3 接种方法

种子用 40% 甲醛稀释 100 倍浸泡 15 min，28℃ 催芽。基质 100℃ 间歇灭菌 2 次后备用。培养容器用 75% 酒精消毒后使用，温室用 5% 石碳酸消毒。

接种剂为白三叶草繁殖的土沙混合物，内含 AM 真菌孢子、被侵染根段及菌丝。采用层播法进行接种，即把接种剂均匀撒在种子下方约 3 cm 处。接种量为每盆 20 g。

1.4 定植与日常管理

1.4.1 不同宿主定苗情况 高粱 3 棵/盆，白三叶草 30 棵/盆。

1.4.2 日常管理 定时浇水，并根据室内温度高低、蒸发快慢，调整浇水量。温度调控在 20~35℃ 之间。视病虫害情况进行适当防治。冬季每天补充光照 3 h。每 30 d 施浇一次 1/10 浓度 Hongland 营养液，营养液试验按设计。保持温室卫生。

1.5 测定项目

试验 I 播种 70 d 后检测根系侵染率、丛枝丰富度、土壤中菌丝量(过滤网格法)。

试验 I、试验 II 收获后测定土壤中孢子数(湿筛倾析法)和土壤中菌丝量(过滤网格法)。

试验 II 收获时测定基质中的速效磷含量(Olsen 法)和宿主植物根长(方格交叉法)。

2 结果与分析

2.1 不同基质对 *G. mosseae* 生长发育的影响

2.1.1 不同基质对 *G. mosseae* 侵染率和丛枝丰富度的影响 用白三叶草做宿主，生长 70 d *G. mosseae* 在不同基质中的侵染情况如表 2。基质 J II 中的侵染明显好于其他 4 种基质，侵染率和丛枝丰富度比其他 4 种多 10% ~ 20%，基质 J III 中菌根菌的侵染较差，侵染率为 25.50%，丛枝丰富度为 7.40%，明显低于以上 4 种基质。

表 2 不同基质对 *G. mosseae* 侵染率和丛枝丰富度的影响

基质	侵染率(%)	丛枝丰富度(%)
J I	43.50	12.95
J II	52.17	24.90
J III	25.50	7.40
J IV	37.67	11.22
J V	40.87	14.60

2.1.2 不同基质对 *G. mosseae* 菌丝量的影响 不同基质中的菌丝量差别不大，70 d、105 d 测得的结果都说明了这一点(表 3)，方差分析，差异不显著。菌丝量的变化，除了 J III 是正的外，其他都是负增长。

2.1.3 不同基质对 *G. mosseae* 产孢子量的影响 不同基质对孢子数影响差异显著，由表 3 中可以得出，基质 J I 与基质 J III 处于同一水平，产孢数相对较多，土壤孢子数在 10 个/g 左右，与其他 3 种相比差异显著，但 J III 稍好于 J I；基质 J IV、基质 J II、基质 J V 处于同一水平，土壤孢子数仅有 4 个/g 或更低。

表 3 不同基质对 *G. mosseae* 菌丝量和孢子数的影响

基质	菌丝量(m/g)		菌丝量变化 (m/g)	孢子数 (个/g)
	70 d	105 d		
J I	3.40	2.75	-0.65	9a
J II	3.98	3.19	-0.79	4b
J III	2.61	3.19	1.58	10a
J IV	3.62	2.34	-1.28	4b
J V	3.40	2.75	-0.65	2b

注：①不同字母者表示差异显著(p<0.05)。②菌丝量和孢子数为每克干土重的测定值，表 4 同

播种后 70 d 检测，J III 侵染最差，105 d 后的检测结果却显示该基质处理的菌丝长度和孢子数最高，并且菌丝量持续增长，这可能与基质养分及基质本身的特性有关。菌根真菌侵染宿主植物的初期，需要宿主提供一定数量的碳水化合物，用以维持菌丝生长，而后才能促进宿主对土壤中一些难移动养分如 P，Zn，Cu 等的吸收，改善植物的生长状况，此时的菌根真菌作为一个与植物根系竞争光合产物很强的库，通常抑制宿主植物的生长^[3]。从长势看出初期 J III 中的植株生长较弱，植物不能为菌根菌提供充足的光合产物，因而限制了菌根真菌的发展。而后期由于菌根的作用，表现为 J III 的菌丝量不断增长，孢子数最多。另一个可能的原因是该试验中曾发现有线虫危害，在 J III 中相对较轻，这也是其他处理菌丝量下降和整个试验产孢量大幅度低于其他试验的原因。

2.2 营养液施用对 *G. mosseae* 生长繁殖的影响

2.2.1 营养液施用对 *G. mosseae* 菌丝量的影响 基质 J I 中，不同营养水平对 *G. mosseae* 菌丝量在高粱根区影响较大，白三叶草的影响较小。高粱每 30 d 施一次 1/10 浓度 Hongland 营养液处理(H10-30)菌丝量最大，且差异显著；白三叶草的菌丝量受营养的影响不大，方

差分析不显著(表 4)。基质 J0 中, 不同营养水平对白三叶草根区 *G. mosseae* 菌丝量有显著影响, 每 30 d 施一次 1/5 浓度 Hongland 营养液处理(H5-30)菌丝量最高, 且差异显著。

表 4 营养液施用对 *G. mosseae* 菌丝量和孢子数的影响

处理	基质 J1 宿主高粱		基质 J1 宿主白三叶草		基质 J0 宿主白三叶草	
	孢子数(个/g)	菌丝量(m/g)	孢子数(个/g)	菌丝量(m/g)	孢子数(个/g)	菌丝量(m/g)
H0	79a	13. 5bcde	23a	11. 1a	14bc	9. 5bc
H10-15	35d	14. 5bcd	12de	10. 7a	13bcde	8. 6bcde
H10-30	49b	19. 7a	20bc	11. 5a	19a	9. 7b
H5-15	48bc	15. 3bc	17bc	10. 0a	13bcd	9. 5bcd
H5-30	31dc	15. 7b	14cd	11. 1a	16ab	11. 6a

2.2.2 营养液施用对 *G. mosseae* 孢子数的影响 营养液的施用对菌根菌产孢子数的影响较大, 无论基质 J1、J0、宿主高粱、白三叶草各营养液处理的方差分析结果都显著。基质 J1 中高梁和白三叶草都是 H0, 即不施加营养液处理的产孢量最高, 其次是 H10-30> H5-15。总的来看, 随着养分的增加, 基质 J1 中的孢子数有减少的趋向, 说明基质 J1 所含的养分(表 1)已能满足共生体生长的需要; 基质 J0 则与基质 J1 不同, 白三叶草产孢量依次为 H10-30> H5-30> H0> H5-15> H10-15。少量施加营养对孢子形成有利。因此, 基质中营养过少或过多都限制孢子的形成。同时, 同一种基质(J1), 宿主不同(高粱、白三叶草)营养液施用对其影响不同, 高粱的最低与最高孢子数相差 1.5 倍, 而白三叶草最低与最高孢子数相差 0.9 倍。同一种宿主白三叶草, 不同基质(J1、J0), 营养液施用的影响也不同: 一是最佳施加的营养量不同, J1 为不施加, J0 为每 30 d 施加 30 mL 1/10 Hongland 营养液(H10-30); 二是对孢子产量影响程度不同, J1 中最高与最低孢子数相差 0.9 倍, J0 中相差 0.5 倍。

另外还可以看出, 各处理中达到最高孢子量和菌丝量的营养液施用方法不同。基质 J1 宿主高粱不施营养液处理孢子数最高, H10-30 处理菌丝量最高。基质 J1 宿主白三叶草不施营养液处理孢子数最高, 各处理菌丝量差异不大。基质 J0 宿主白三叶草 H10-30 处理孢子数最高, H5-30 处理菌丝量最高(表 4)。

2.2.3 *G. mosseae* 根区孢子数与根长之间的关系 本试验除了研究营养液施用对 *G. mosseae* 根区孢子数影响外, 在基质 J0 宿主白三叶草处理中还对各营养液施用水平的根长进行了测定。结果显示: 孢子数与根长呈反比例关系, 根长越短, 孢子数越多(图 1), 孢子数排序 H10-30> H5-30> H0> H5-15> H10-15, 根长排序则正好相反, H10-15> H5-15> H0> H5-30> H10-30。菌根菌侵染植物常引起根重、根的分枝、根长减小^[4]。由于各处理间根长方差分析差异不显著, 本试验的结果仅说明, 在一定程度上根系发达, 不利孢子的形成。

2.2.4 基质中速效磷的含量与孢子数之间的关系 本试验中处理较多, 结果显得不明了。但是, 在忽略其他营养元素影响的情况下, 孢子的产生与基质中速效磷的含量存在着密切的

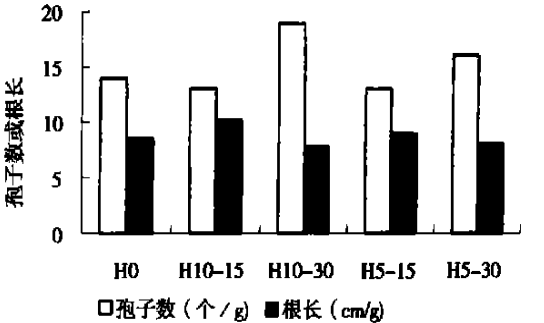


图 1 白三叶草根区 *G. mosseae* 孢子数和根长之间的关系

关系(表 5)。概括试验结果可以看出：基质 J1 宿主高粱和白三叶草不施营养液处理(H0)孢子数最高，基质 J0 宿主白三叶草 H10-30 处理孢子数最高(表 4)。而盆中基质速效磷含量测定结果证明：J0 中 H10-30 处理为 10.54 mg/kg，J1 中 H0 处理为 10.75 mg/kg，即速效磷含量在 10 mg/kg 左右时孢子产量最高。而其他处理孢子数却较少，如在 J0 和 J1 中 H5-15 处理总的磷含量为 75.54 mg/kg 和 85.15 mg/kg，高出其他的 2~3 倍，但孢子数分别是最高者的 0.70 和 0.62 倍。J0 中的 H0 处理总的速效磷含量只有 1.14 mg/kg，孢子数是最高者的 0.72 倍。可见，基质中速效磷含量过高或过低都不利孢子的形成，因此在生产 AM 菌剂时，为保证菌剂质量应确定合理的营养含量，以免造成营养不良或者浪费。

表 5 施用营养液后基质速效磷的含量 mg/kg

处理	J1	J0
H0	10.75	1.14
H10-15	47.95	38.34
H10-30	20.15	10.54
H5-15	85.15	75.54
H5-30	29.35	19.47

3 讨论

3.1 培养基质的筛选

作为繁殖菌种和培养宿主植物的载体基质，一般要求有较好的疏松、透气及保水性能，所以常用混合基质^[5]。并且盆钵培养的固体基质对繁殖体的数量影响很大，Sreenivasa and Bagyaraj^[6]用珍珠岩、蛭石和草炭土按一定比例混合做基质，将 *Glomus fasciculatum* 接种于苏丹草(*Rhodes grass*)可产生大量的繁殖体。目前国际上，为符合工业化大量生产经济和方便的原则，多将盆栽基质改为质量轻而干净的珍珠岩、蛭石、蒙脱石、保水胶体等其他介质^[1]。但很多人还是用简单易得的沙和土按不同比例混合后作为培养基质。本试验证明沙和土 1:1 混合，是一种较好的培养基质。

3.2 营养液施用对 *G. mosseae* 生长繁殖的影响

AM 菌是严格内生菌，它的生长不仅需要自身从土壤中吸收的矿质营养，还需要宿主植物提供的碳水化合物。因此基质既可通过根外菌丝直接影响菌根菌，又可通过影响宿主来间接影响菌根菌的繁殖。营养液的成分、数量和浇施频度等对 AM 菌剂的生产都是重要的因素，通过调整营养液的组分可提高 AM 菌的产孢量^[7]。Hung 和 Slyvia^[8]提供了营养液的全部组成。在各种营养元素中，AM 真菌对磷的浓度最敏感。Mosse 和 Thompson^[9]证明过多的磷含量会降低侵染，每千克土壤中磷酸二氢钙的含量超过 1 g 时，AM 菌生长受到限制，达到 6 g 时 AM 菌不能形成。造成 AM 真菌侵染率下降及孢子数量减少的主要原因是土壤中磷的改变，土壤磷直接影响菌根菌的扩展，在孢子发芽和早期的根外菌丝生长时更为明显^[1]。本试验的研究结果表明：无论哪种基质，其速效磷含量在 10 mg/kg 左右时，最有利于 AM 真菌的生长和产孢。总之，磷是菌根菌生长发育中最关键的营养元素，在菌剂生产中必须加以重视。

参考文献：

[1] 吴继光, 林素祯. 囊丛枝内生菌根菌种原生产技术[A]. 囊丛枝内生菌根菌应用技术手册[M]. 台湾: 台湾

省农业试验所, 1998 109—118

- [2] Ferguson J J, Woodhead S H. Production of endomycorrhizal inoculum A. Increase and maintenance of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi[A] . Methods and Principles of Mycorrhizal Research[M] . USA: American Phytopathological Society, 1982. 47—54.
- [3] Thomson B D, Robson A D, Abbott L K. Vesicular-arbuscular mycorrhizae fungi in pastures[J] . Aust J Agri Res 1992, 43: 1131—1142
- [4] Hetrick B A D, Wilson G T. Mycorrhizal dependence and growth habit of warm-season and cool-season tallgrass prairie plants[J] . Canadian Journal of Botany, 1988 66: 1376—1380
- [5] 陈应龙, 弓明钦, 王凤珍, 等. VA 菌根菌剂的生产及其接种潜力的测定[J] . 热带亚热带土壤科学, 1997, 6 (2): 113—120
- [6] Sreenivasa M N, Bagyaraj D J. *Chloris gayana*(Rhodes grass), a better host for the mass production of *Glomus fasciculatum* inoculum[J] . Plant Soil, 1988, 106: 289—290.
- [7] Sylvia D M. Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi[A] . Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and Biochemical Properties-SSSA Book Series[M] . USA: Soil Science Society of America, 1994. 351—378
- [8] Hung L L L, Sylvia D M. Production of vesicular-arbuscular mycorrhizal in aeroponic culture[J] . Appl Environ Microbiol 1988, 54: 353—357.
- [9] Mosse B, Thompson J P. Vesicular-arbuscular endomycorrhizal inoculum production 1. Exploratory experiment with beans(*Phaseolus vulgaris*) in nutrient flow culture[J] . Can J Bot 1984, 62: 1523—1530

Effects of Growth Medium and Nutrient Status on Arbuscular Mycorrhizal Fungi Inoculum

WANG You-shan¹, LIU Xiang-mei², ZHANG Mei-qing¹, XING Li-jun¹

(1. Institute of Plant Nutrition and Resources, Beijing Academy of
Agriculture and Forestry Sciences Beijing 100089, China;

2. Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Some factors affected the quality of inoculum in pot culture for producing AM fungi inoculum. In this paper, the influence of composition of medium, and the replenishment of nutrient solution on the quality of *G. mosseae* inoculum were studied. The results showed that different mediums have different nutrient status, aeration and water holding capacity; and therefore, have different influences on the growth and reproduction of mycorrhizal fungi. In five mediums loam soil mixed with equal amount of sand was proved to have the highest number of spores. The nutrient status, especially the content of Olsen P, could change the quality of inoculum. In five levels of nutrient status 10 mg/kg of Olsen P was the most favorable for the production of AM fungi spores.

Key words: Arbuscular mycorrhizal fungi; *G. mosseae*; Plant medium; Nutrient status