

AM 菌丝在 2 种培养基质中的生长状况比较

李 侠^{1, 2}, 杜世杰³, 戎婷婷¹, 白 静¹, 韩志平¹

(1. 山西大同大学生命科学学院, 山西 大同 037009; 2. 中国农业大学资源与环境学院, 北京 100193;
3. 山西大同市城区投资促进局, 山西 大同 037009)

摘要: 菌丝是丛枝菌根吸收传递养分的主要部分, 传统采用玻璃珠培养收集菌丝法, 虽然可以收集到纯净的 AM 菌丝, 但收集到的菌丝量较少。以玉米为宿主植物, 以单用玻璃珠(对照)或以玻璃珠(2 mm)与沙子(0.25~1.00 mm)混合作为培养基质, 分别接种 *Glomus mosseae* 或 *Glomus intraradices* 进行 AM 菌丝收集。结果表明, 接种 *G. mosseae* 的植株根系侵染率显著低于 *G. intraradices* 处理, 而收集到的 *G. mosseae* 根外菌丝量却显著高于 *G. intraradices*。玻璃珠和沙子混合培养基质收集到的 *G. mosseae* 根外菌丝干重可达 24.4 mg/kg, 约为玻璃珠基质的 4.7 倍。

关键词: 菌丝; 玻璃珠; 沙子; 丛枝菌根真菌

中图分类号: Q81 **文献标志码:** A

文章编号: 1001-1463(2018)09-0010-04

doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2018.09.004

丛枝菌根真菌 (*Arbuscular mycorrhizal fungi*, AMF) 是土壤中广泛存在的一类重要微生物, 能与陆地约 80% 的植物共生, 促进植物吸收养分尤其是磷, 增强植物抗逆性并改善土壤结构, 影响植物群落结构和生产力^[1-5]。然而, 由于 AM 真菌是严格的专性共生生物, 脱离了宿主植物即无法正常生长发育和完成其生命过程。虽然研究者试图探明宿主植物与菌根真菌间的信息和物质交换过程, 但至今仍无法建立 AM 真菌的离体培养, 成为相关研究以及丛枝菌根广泛应用的主要障碍。目前 AM 真菌培养均在共生条件下进行, 通常采用的基质为土壤, 但从土壤中去除孢子表面的污染十分困难, 同时也难以获得足够量的纯净菌丝体^[6]。胡萝卜根系质粒离体培养菌丝法 (Ri T-DNA transformed carrot roots) 虽然可以得到纯净的菌丝体和孢子, 但这种培养体系的建立十分繁琐, 而且难于操作。玻璃珠分室培养将 AM 真菌

的传统基质培养与无土培养结合起来, 利用这种培养技术可以培养出纯净的 AM 真菌^[7], 但由于玻璃珠粒径大, 作为基质空隙大, 持水性差, 水分难以控制, 因而菌丝量较少, 且重复间变异很大, 所以迫切需要寻求一种能进行粗放管理而且菌丝生物量高的培养方法。我们借鉴了 INVAM (<http://invam.wvu.edu>) 中采用的沙培收集菌丝的方法, 将玻璃珠(2 mm)与沙子(0.25~1.00 mm)混合, 弥补了单纯使用玻璃珠所造成的不足, 管理要求比较低, 且又能较容易分离到纯净的菌丝体。

1 材料与方法

1.1 试验材料

宿主植物采用玉米 (*Zea mays L.*)。菌剂采用 *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerdemann & Trappe (BEG167) 和 *Glomus intraradices* Schenck & Smith (BEG141)。根室基质为珍珠岩, 菌丝室基质为玻璃珠(2 mm)或沙子(0.25~1.00 mm)。珍珠岩、

收稿日期: 2018-08-03

基金项目: 国家自然科学基金(31400479); 山西大同大学科研项目(2011K9); 山西大同大学大学生创新项目(2015-XDC2015141); 山西省科技攻关项目(20150311010-1); 大同市科技攻关项目(2015099; 2016111)。

作者简介: 李 侠(1981—), 女, 山西运城人, 讲师, 硕士, 从事环境微生物研究工作。Email: lixia810504@163.com。

通信作者: 韩志平(1976—), 男, 山西孟县人, 副教授, 博士, 从事植物逆境生理研究工作。联系电话: (0352)7158164。

59.

- [6] 雷建明, 范提平, 赵新旺, 等. 冬性白菜型油菜的遗传多样性分析[J]. 甘肃农业科技, 2016(3): 31-36.

[7] 陈其鲜, 孙万仓. 甘肃省冬油菜生产现状、问题及对策[J]. 甘肃农业, 2012, 341(11): 21-23.

(本文责编: 陈伟)

玻璃珠和沙子均经高温灭菌(100 °C, 2 h)处理。

1.2 试验装置

培养装置为两室培养, 即在大的试验盆中放置小尼龙网袋。大盆作为根室, 用于植物生长, 体积为 1 L。尼龙网袋则作为菌丝室, 由 30 μm 尼龙网进行缝织而成, 其作用是允许根外菌丝穿过, 而根系不能进入尼龙网中, 体积为 250 mL (图1)。

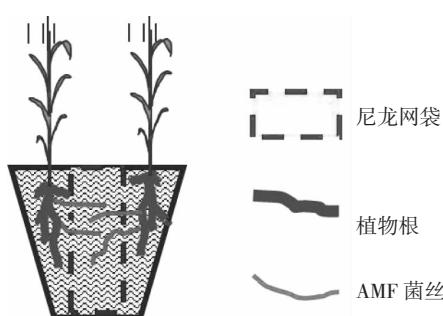


图 1 试验用盆

1.3 试验设计

根室基质采用珍珠岩。菌丝室设 2 种不同基质处理, 分别为玻璃珠、玻璃珠和沙子混合(以体积 1 : 1 混合)。分别接种丛枝菌根真菌 *Glomus mosseae* 和 *Glomus intraradices*, 以不接种 (-M) 为对照, 共 6 个处理, 随机区组排列, 重复 4 次。根室装灭菌珍珠岩 35 g, 与 70 g 灭菌(接种处理)或未灭菌(不接菌的对照处理)菌剂混匀后装入。菌丝室装 250 g 灭菌玻璃珠或玻璃珠和沙子的混合物。培养时间为 2005 年 5 月 31 日至 2006 年 7 月

31 日。播种 7 d 后间苗, 每盆保留 3 株生长一致的幼苗。试验在中国农业大学植物营养培养室内进行, 生物镝灯补充光照。光照强度为 250 μmol/(m²·s), 室内温度保持在 18~22 °C。利用称重法监控水分并及时补充半强度 LANS 营养液(发芽后前 3 d 供应 1/10 的稀释营养液, 以促进孢子萌发)^[8], 基质水分控制在 12%~20% (V/V)。

1.4 指标测定

采用曲利苯蓝染色法测定根系侵染率^[9]。将培养基质与水混合搅拌后搜集菌丝, 烘干后称干重。

1.5 统计分析

试验所得到的数据均由 SAS 软件包内的单因素和两因素方差分析和 Duncan 多重比较进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 植株根系侵染率

未接种植株根系均未观察到菌根真菌侵染, 说明试验操作符合要求, 2 种菌根真菌均与玉米根系形成良好的菌根, 且接种 2 种真菌的植株根系侵染率差异达到显著水平, 接种 *G. intraradices* 植株根系侵染率显著高于接种 *G. mosseae* 植株, 其根系侵染率分别为 88.3% 和 58.5%。菌丝室不同基质处理对植株根系侵染率无显著影响(表1)。

2.2 植株生长状况

接种菌根真菌(*G. intraradices*)植株地上部干重、根系干重和总干重显著高于对照植株, 而接种菌

表 1 接种和基质处理对玉米植株菌根侵染率、植株地上部干重、根系干重、总干重和冠根比的影响^①

接种处理	菌丝室不同基质	菌根侵染率 /%	地上部干重 /g	根系干重 /g	植株总干重 /g	冠根比
-M(CK)	玻璃珠	2.88	0.96	3.84	3.09	
	玻璃珠和沙子	3.16	1.07	4.23	3.01	
	基质处理平均值	3.02 b	1.01 b	4.03 b	3.05 a	
<i>G. mosseae</i>	玻璃珠	54.8	3.33	1.29	4.61	2.58
	玻璃珠和沙子	62.2	3.36	1.43	4.79	2.36
	基质处理平均值	58.5 b	3.34 ab	1.36 a	4.70 a	2.47 b
<i>G. intraradices</i>	玻璃珠	90.0	3.58	1.36	4.93	2.66
	玻璃珠和沙子	86.6	3.47	1.41	4.88	2.47
	基质处理平均值	88.3 a	3.52 a	1.38 a	4.91 a	2.57 b

①同一列中的不同字母表示不同基质处理的平均数在 P=0.05 水平差异显著。

根真菌植株冠根比却显著低于对照植株。菌丝室不同基质处理对植株地上部干重、根系干重和总干重均无显著影响(表1)。

2.3 AMF 根外菌丝生物量

从对照菌丝室收集到一定量的菌丝,说明培养过程中基质中有杂菌菌丝。接种菌根真菌显著增加了AMF根外菌丝的干重,其中接种*G. mosseae*处理的根外菌丝干重显著高于对照处理和接种*G. intraradics*处理;菌丝室不同基质处理对根外菌丝干重的影响仅在接种*G. mosseae*时差异达到显著水平,表现为玻璃珠和沙子混合基质处理根外菌丝干重显著高于玻璃珠基质处理,前者约为后者的4.7倍。接种*G. intraradics*时,2种基质处理对菌丝干重无显著影响(图2)。

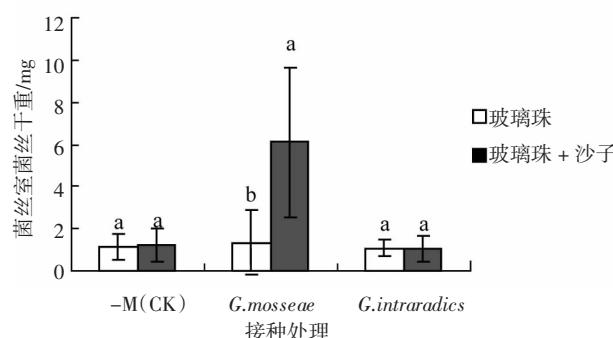


图2 接种和基质处理对菌丝室菌丝干物重的影响

3 结论与讨论

比较分析表明,接种*G. mosseae*的植株根系侵染率显著低于*G. intraradics*处理,而*G. mosseae*根外菌丝量却显著高于*G. intraradics*。很多研究表明*G. mosseae*的菌丝体比较发达,而孢子数量少;*G. intraradics*根内孢子比较多,根外菌丝较少。

Chen等^[7]用玻璃珠收集菌丝试验中,收集到的*Glomus versiforme*孢子和菌丝体量可达20 mg,*G. mosseae*可达10 mg,其菌丝室装入玻璃珠量为960 g,因而单位基质收集到*G. mosseae*的菌丝干重为10.04 mg/kg。本试验中菌丝室装入玻璃珠与沙子混合物250 g,收集到*G. mosseae*的菌丝干重为6.1 mg,即单位基质收集到*G. mosseae*菌丝干重为24.4 mg/kg,约为Chen等^[7]采用玻璃珠收集菌丝干重的2.4倍。

在本试验中,除在菌丝室采用玻璃珠和沙子混合基质处理时*G. mosseae*菌丝干重比较高外,

其余处理菌丝干重均较低,接近于背景值。可能的原因是植株生长过程中营养液供应浓度较低,管理较粗放。初步研究显示,利用玻璃珠和沙子混合作为基质培养菌根真菌可以方便管理,如何提高多种菌根真菌的菌丝量仍有待进一步研究。

综上所述,接种菌根真菌显著增加了植株生物量。接种菌根真菌*G. mosseae*的侵染率显著低于真菌*G. intraradics*,但根外菌丝量却反之。相比单用玻璃珠,采用玻璃珠和沙子混合作为基质可以收集到较多的*G. mosseae*根外菌丝。

参考文献:

- VAN M D H, MARTIN F M, SELOSSE M A, et al. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future[J]. New Phytologist, 2015, 205(4): 1406–1423.
- MARSCHNER H, DELL B. Nutrient-uptake in mycorrhizal symbiosis[J]. Plant and Soil, 1994, 159: 89–102.
- FENG G, ZHANG F, LI X, et al. Improved tolerance of maize plants to salt stress by arbuscular mycorrhiza is related to higher accumulation of soluble sugars in roots [J]. Mycorrhiza, 2002, 12: 185–190.
- SCHUTZENDUBEL A, POLLE A. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal induced oxidative stress and protection by mycorrhization[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53: 1351–1365.
- LI X L, ZHANG J L, GAI J P, et al. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi of sedges to soil aggregation along an altitudinal alpine grassland gradient on the Tibetan Plateau[J]. Environmental Microbiology, 2015, 17(8): 2841–2857.
- HORN K, HAHN A, PAUSCH F. Isolation of pure spore and hyphal fractions from vesicular–arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Journal of Plant Physiology, 1993, 141: 28–32.
- CHEN B D, CHRISTIE P, LI X L. A modified glass bead compartment cultivation system for studies on nutrient and trace metal uptake by arbuscular mycorrhiza[J]. Chemosphere, 2001, 42: 185–192.
- HAWKINS H J, GEORGE E. Effect of plant nitrogen status on the contribution of arbuscular mycorrhizal hyphae to plant nitrogen uptake[J]. Physiol Planta, 1999, 105: 694–700.
- PHILLIPS J M, HAYMAN D S. Improved procedures

玉米新品种甘玉早803选育报告

张锦昌，许会军

(甘肃种业有限公司，甘肃 兰州 730020)

摘要：甘玉早 803 玉米新品种是以自选系 GZ89 为母本、GZ70 为父本育成的极早熟玉米杂交种。2016—2017 年参加甘肃省旱作玉米极早熟品种区域试验，平均折合产量 9 093.0 kg/hm²，比对照品种德美亚 2 号增产 5.6%。籽粒含粗蛋白 99.9 g/kg、粗脂肪 52 g/kg、粗淀粉 713.3 g/kg、赖氨酸 2.6 g/kg、容重 794 g/L。属优质玉米，高抗丝黑穗病。可在甘肃极早熟春玉米区推广种植。

关键词：玉米；新品种；甘玉早 803；选育

中图分类号：S513

文献标志码：A

文章编号：1001-1463(2018)09-0013-02

doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2018.09.005

Report on Breeding of New Corn Hybrid Ganyuzao 803

ZHANG Jingchang, XU Huijun

(Gansu Seed Co., Ltd., Lanzhou Gansu 730020, China)

Abstract: Ganyuzao 803 is a new corn hybrid, with parents combination of self-bred inbred line GZ89 and GZ70. In 2016—2017, the average yield was 9 093 kg/hm², 5.6% higher than the control Demeiya 2 in Gansu Extremely Early Maturity Dry-land Corn Regional Trial. The crude protein of grain, crude fat, crude starch, lysine and bulk weight are 99.9 g/kg, 52 g/kg, 713.3 g/kg, 2.6 g/kg and 794 g/L, respectively. It is a high-quality corn, high resistant to silk smut. It can be widely planted in the region of extremely early spring corn of Gansu Province.

Key words: Corn; New cultivar; Ganyuzao 801; Breeding

玉米是粮食、饲料和工业原料兼用农作物，是我国的第二大粮食作物，也是甘肃省第一大粮食作物和最主要的饲料作物之一^[1-2]。选育高产、优质、适应性广的极早熟玉米新品种是实现玉米增产增收，促进农业生产可持续发展的主导因素^[3-5]。甘肃种业有限公司于 2012 年在平凉育成了丰产优质的极早熟玉米杂交种甘玉早 803，现报道如下。

1 亲本来源及选育经过

甘玉早 803 亲本组合为 GZ89/GZ70。母本 GZ89 是甘肃种业有限公司以合 344 与利玛 28 父本杂交后，经 8 代自交选育，育成的优良自交系；

父本 GZ70 是甘肃种业有限公司以利玛 28 母本 × 德美亚 3 号母本杂交组成基础材料，系谱法选择，经 8 代自交选育，于 2012 年育成的优良自交系。2012 年配制新组合，2013 年参加品鉴试验，2014—2015 年参加品比试验，2016—2017 年参加甘肃省旱作玉米极早熟组玉米区域试验，2017 年参加甘肃省旱联体极早熟组玉米生产试验。2018 年通过甘肃省农作物品种审定委员会审定，定名为甘玉早 803，审定编号为甘审玉 20180061。

2 产量表现

2.1 品鉴试验

2013 年参加品鉴试验，甘玉早 803 平均折合

收稿日期：2018-06-27

作者简介：张锦昌(1980—)，男，甘肃民乐人，农艺师，主要从事玉米育种和栽培技术研究工作。联系电话：(0)13993387399。Email：858507985@qq.com。

for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection[J]. Transactions of the British Mycological Society,

1970, 55(1): 158-161.

(本文责编：郑丹丹)