

宿主植物的栽培密度对 AM 真菌孢子产量的影响

姚 青^{1,3}, 胡又厘¹, 廖金才², 朱红惠³

(1 华南农业大学 园艺学院 南方果树生理研究室, 广东 广州 510642; 2 广东省科技咨询服务中心, 广东 广州 510040; 3 广东省微生物研究所 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广东 广州 510070)

摘要:对宿主植物的栽培密度与孢子产量的相关性进行了试验研究. 以百喜草 *Paspalum notatum* 为宿主, 每盆栽 1、5 或 10 株, 以稍长无梗囊霉 *Acaulospora longula* 为供试菌株. 植株生长 4 个月, 结果发现 1 株/盆的侵染率显著高于其他 2 个栽培密度, 但是三者的孢囊和丛枝的百分率没有差异. 3 种栽培密度下每盆植株的地上部生物量没有差异, 但根系生物量随着栽培密度的增加而降低, 土壤中的孢子密度也具有同样的趋势. 相关分析发现, 孢子密度与根系生物量密切相关. 试验结果表明, 宿主植物的高密度栽培可能导致分配到根系碳水化合物减少, 从而减少 AM 真菌的孢子产量.

关键词:宿主植物; AM 真菌; 栽培密度; 产孢

中图分类号: Q939.96

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2007)01-0014-04

Influence of Host Planting Density on Sporulation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi

YAO Qing^{1,3}, HU You-li¹, LIAO Jin-cai², ZHU Hong-hui³

(1 College of Horticulture, Physiological Lab for South China Fruits, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China; 2 Guangdong Science & Technology Consulting Service Center, Guangzhou 510040, China; 3 Guangdong Institute of Microbiology, Guangdong Key Lab of Microbial Collection and Application, Guangzhou 510070, China)

Abstract: The relationship between host planting density and sporulation of arbuscular mycorrhizal (AM) fungi was investigated. *Acaulospora longula* were inoculated into bahia grass pots with 1, 5 or 10 plants. After 4 months growth, the AM colonization were much higher in pots with 1 plant than that in pots with 5 or 10 plants, but no difference in the vesicle percentage and arbuscle percentage was observed. Although the shoot biomass didn't vary between 3 planting densities, the root biomass and spore density decreased with the increasing of planting density. Correlation analysis revealed a close relationship between root biomass and spore density. The result suggests that high planting density probably reduces the carbohydrate partitioned to the roots, and further retards the sporulation.

Key words: host plants; AM fungi; planting density; sporulation

丛枝菌根真菌 (AM 真菌) 属于球囊菌门 (Glomalecyta) 球囊霉目 (Glomales), 是一类重要的土壤真菌, 在与植物根系建立共生关系之后, 能够明显地促进宿主植物对养分的吸收和生长^[1], 提高植物对土传病害、干旱、重金属等各种胁迫的抗性^[2-3]. 由于 AM 真菌的纯培养到目前为止尚未取得成功, 无法实

现大规模的菌剂生产, 因此利用与植物的共生关系来进行增殖仍然是目前国际通行的菌剂生产方式^[4]. 通过共生培养而获得的 AM 真菌菌剂的有效成分包括孢子、菌丝和受侵染的根段. 尽管菌丝和受侵染的根段具有良好的侵染能力, 也可以对其侵染能力进行量化, 但是孢子由于其易操作性和可计数

收稿日期: 2006-06-22

作者简介: 姚 青 (1970—), 男, 副教授, 博士; 通讯作者: 朱红惠 (1970—), 女, 副研究员, 博士, E-mail: zhuhonghui66@yahoo.com.cn

基金项目: 广东省基金研究团队项目 (E05202480); 广东省科技计划项目 (2004B20501003)

性,在平板培养、菌种的定量使用、建立发根双重培养等领域成为唯一的有效侵染源^[5-7]。基于此,获得大量的孢子成为许多菌剂生产者的重要目标。

AM真菌的孢子形成受到许多因素的影响,包括环境因素和宿主因素。调查发现,自然植被的土壤中孢子数量在秋、冬季达到最大值,而在春、夏季数量较低^[8],笔者也发现这个季节收集的土样中已经萌发的空壳孢子较多。土壤中的氮源也影响孢子的产量,Bago等^[9]在根内球囊霉 *Glomus intraradices* 与胡萝卜毛状根的双重培养试验中发现, NO_3^- 条件下孢子产量远远大于 NH_4^+ 条件下的产量,他们认为菌丝吸收、同化 NH_4^+ 引起的酸化是产孢受抑制的原因。Coughlan等^[10]在盆栽试验中也发现低pH能降低摩西球囊霉 *Glomus mosseae* 孢子的产量。Carrenho等^[11]认为,光照强度和摘叶能抑制AM真菌的侵染和泡囊的形成,进而减少外生菌丝数量和孢子产量,这与遮荫后输送到根系的碳水化合物数量减少有关,因为孢子的形成可能需要较高的C/N^[9]。

笔者在多年的繁殖AM真菌菌剂过程中发现,高密度播种使得宿主植物完全覆盖土壤的年份中回收的孢子很少、甚至没有,而栽培少量植株的年份孢子的产量较高。这个现象表明,宿主的种植密度可能对AM真菌的孢子产量产生必然的影响。基于此,本试验利用百喜草繁殖稍长无梗囊霉 *Acaulospora longula* 来探讨宿主植物栽培密度对其孢子产量的影响,并分析其中的原因,为提高AMF孢子产量提供依据。

1 材料与方法

1.1 AM真菌与宿主植物

本试验中供试的AM真菌是稍长无梗囊霉 *Acaulospora longula*, 宿主植物为百喜草 *Paspalum notatum*。

1.2 栽培与管理

将酸性黑土、河砂和园艺专用土按照体积比5:4:1混合均匀,按1 mg/L加入 CaCO_3 以调整混合介质的pH值至5.8待用。用黑色育苗袋为200 mL栽培容器,每袋装300 g混合介质,再将15 g菌剂(根外菌丝、感染的根段、孢子和土壤的混合物)与上层150 g混合介质充分混匀。百喜草种子用60℃温水处理5 min,体积分数为10%的 NaClO_3 表面灭菌1 h后,点播在无菌的铺有湿润滤纸的铝盘中,用保鲜膜封口后在28℃培养,待幼苗3~4 cm高时移栽到装有混合介质的育苗袋中。

植株移栽设3个栽培密度,分别为每袋1、5、10株苗,每个栽培密度设4个重复。全部12个育苗袋

置于人工气候箱中,培养条件为每天光照14 h(28℃)、黑暗10 h(15℃),光照强度为14 000 lx。植株水分管理根据土壤状况进行。

1.3 指标测定

植株培养4个月之后停止浇水,所有植株约2周后开始出现叶片枯黄现象,1个月后因干旱胁迫而逐渐死亡,取植株的地上部和根系,洗净后烘干至恒质量,记录其生物量;少量新鲜根系经染色后测定其菌根侵染率、丛枝和泡囊的比例^[12];用湿筛法^[13]回收土壤中孢子并计数。

2 结果与分析

从表1可以看出,植株的栽培密度对侵染率产生明显的影响,栽培密度低时根系的侵染率较高。根系中丛枝和泡囊的比例未受到栽培密度的影响,两者分别为13%~19%和4.0%~9.0%,但是,丛枝的比例有随着栽培密度增加而提高的趋势。

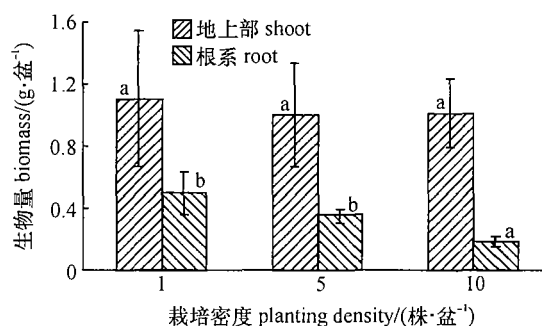
表1 不同栽培密度下百喜草根系的侵染率、丛枝和泡囊的比率¹⁾

Tab. 1 Colonization, arbuscule and vesicle rate of Bahia grass root at different planting density conditions

栽培密度 planting density /(株·盆 ⁻¹)	侵染率 colonization /%	丛枝 arbuscules /%	泡囊 vesicles /%
1	50.1±2.1 b	13.6±5.2 a	6.0±2.6 a
5	36.9±4.5 a	16.3±4.2 a	4.1±1.5 a
10	41.0±4.3 a	18.8±4.7 a	8.5±4.1 a

1) 同列数据后不同字母示差异达显著水平($P < 0.05$, LSD法)

在3个栽培密度下,百喜草的地上部生物量均略高于1.0 g(图1),表明栽培密度的变化对地上部生物量没有产生明显的影响。相反,随着栽培密度的增加,百喜草的根系生物量明显降低(图1),即栽培密度越大则根系生物量越小。



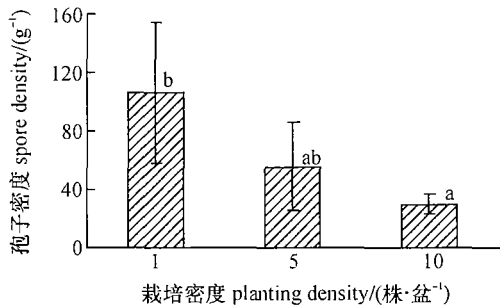
同一指标的不同字母示差异达显著水平($P < 0.05$, LSD法)

different letters in each parameter indicate significant difference at $P < 0.05$, LSD

图1 不同栽培密度下百喜草地上部和根系的生物量

Fig. 1 Shoot biomass and root biomass of Bahia grass at different planting density conditions

植株生长5个月后,不同栽培密度下土壤中的孢子密度也不同(图2).与根系生物量相似,栽培密度越大则孢子密度越小,10株/盆的栽培密度下孢子密度约为1株/盆的栽培密度下的1/3,这表明宿主植物的栽培密度能对孢子产量产生明显的影响.



不同字母差异达显著水平 ($P < 0.05$, LSD)

different letters indicate significant difference at $P < 0.05$, LSD

图2 不同栽培密度下稍长无梗囊霉的孢子产量

Fig. 2 Spore yield of *Acaulspora longula* at different planting density conditions

对孢子密度与地上部生物量和根系生物量分别进行相关分析(图3),结果发现孢子密度与根系生物量的相关系数($R = 0.922$)明显高于孢子密度与地上部生物量的相关系数($R = 0.833$).这表明,根系生物量对孢子产量的影响大于地上部生物量对孢子产量的影响.

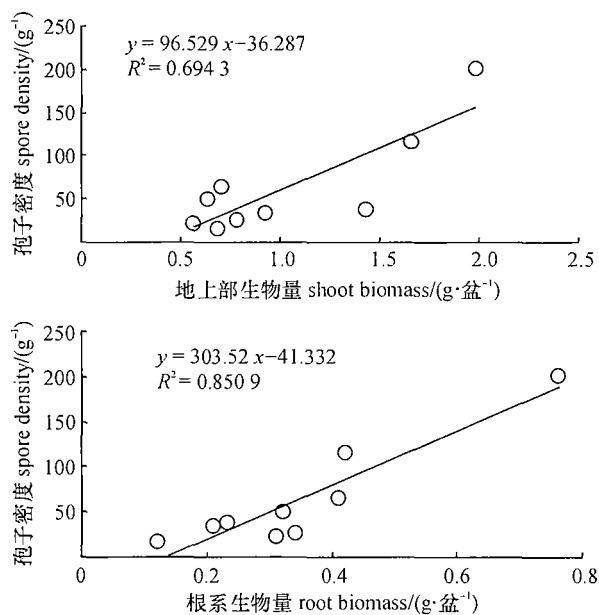


图3 稍长无梗囊霉的孢子产量与地上部和根系生物量的关系

Fig. 3 The relationship between spore yield of *Acaulspora longula* and shoot and root biomass

3 讨论

本试验中的数据明确表明,孢子产量随着宿主植物栽培密度的增加而降低,与我们在繁殖AM真菌菌剂过程中所观察到的现象一致.陈宁等^[14]也曾报道了类似的现象,他们在10L的盆子中以高粱为宿主繁殖摩西球囊霉,发现孢子数在20~60株/盆范围内随栽培密度增加而增大,超过60株/盆时则锐减,如果以体积为基础,即在2~6株/L时随栽培密度增加而增大,超过6株/L时则锐减.本试验中宿主植物的栽培密度较高,为5、25、50株/L.显然,2个试验的结果并不矛盾.

影响AM真菌孢子产量的因素很多,其中宿主植物根系所能提供的碳水化合物的数量是一个重要的决定性因素^[1,15].研究认为,丛枝从根细胞中交换获得六碳糖^[16],合成甘油三酯(TAG)后向外运输^[17],最终以贮藏物的形式进入孢子.试验表明,孢子中的磷脂占鲜质量的36%、中型脂肪酸占鲜质量的20%.显然,孢子既是重要的磷库,也是重要的碳水化合物的储存场所,因此,孢子在形成过程中必然消耗相当数量的、来自于根系的碳水化合物,相应地,根系的多少以及其中碳水化合物的水平对孢子产量具有重要的决定意义.本试验中,根系生物量与孢子产量的相关系数达到0.922,表明根系生物量是影响孢子产量的重要因素.这可能是因为单位土壤空间内的根系越多,则能向AMF提供的光合产物越多,菌丝量和孢子产量相应增加.根系中碳水化合物水平对孢子形成的影响在其他试验中也有报道^[14,18].

本试验的结果表明,宿主植物的高密度栽培降低AM真菌孢子产量的内在根源是根系生物量随着密度的增加而减少.但是,这一现象在陈宁等^[14]的试验中没有观察到,这也可能与他们所采用的栽培密度较低有关.对玉米种植密度的研究发现,植株的冠根比与密度呈显著的正相关关系^[19];自然状态下的调查也表明,淫羊藿的种群密度随着海拔的增加而降低,而根冠比则相反^[20].这些现象的产生都是因为,在高密度条件下,更多的光合产物分配到地上部以获取充分的光资源,从而导致根系生物量降低;相反,在低密度条件下,土壤空间中的根系密度低,更多的光合产物分配到根系以获取充分养分和水分资源,使得低密度条件下的地上部生物量近似于高密度条件下的地上部生物量.这可能是本试验观察到的宿主高密度栽培条件下AM真菌孢子产量减少的主要原因.

参考文献:

- [1] SMITH S E, READ D J. Mycorrhizal symbiosis [M]. 2nd ed. London: Academic Press, 1997: 126-154.
- [2] 朱红惠,姚青. VA 菌根真菌与植物的抗病性[J]. 热带与亚热带土壤科学, 1998, 7(4): 319-324.
- [3] WU Qiang-sheng, XIA Ren-xue. Arbuscular mycorrhizal fungi influence growth, osmotic adjustment and photosynthesis of citrus under well-watered and water stress conditions [J]. J Plant Physiol, 2006, 163(4): 417-425.
- [4] GIANINAZZI S, VOSATKA M. Inoculum of arbuscular mycorrhizal fungi for production system: science meets business [J]. Can J Bot, 2004, 82: 1264-1271.
- [5] 朱红惠,姚青,龙良鲲,等. 不同氮形态对AM真菌孢子萌发和菌丝生长的影响[J]. 菌物学报, 2004, 23(4): 590-595.
- [6] SOLAIMAN M, EZAWA T, KOJIMA T, et al. Polyphosphates in intraradical and extraradical hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* [J]. Appl Environ Microb, 1999, 65: 5604-5606.
- [7] 毕银丽,汪洪钢,李晓林. 丛枝菌根真菌与转移 Ri T-DNA 胡萝卜根器官双重培养的形态学研究[J]. 菌物系统, 1999, 18(2): 159-163.
- [8] 李凌飞,杨安娜,赵之伟. 丛枝菌根真菌种群的孢子季相动态研究[J]. 生态学杂志, 2005, 24(10): 1155-1158.
- [9] BAGO B, CANO C, AZCON-AGUILAR C, et al. Differential morphogenesis of the extraradical mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus grown monoxenically on spatially heterogeneous culture media [J]. Mycologia, 2004, 96(3): 452-462.
- [10] COUGHLAN A P, DALPE Y, LAPOINTE L, et al. Soil pH-induced changes in root colonization, diversity, and reproduction of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi from healthy and declining maple forests [J]. Can J Forest Res, 2000, 30(10): 1543-1554.
- [11] CARRENHO R, TRUFEM S B, BONONI V. Effects of using different host plants on the detected biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi from an agroecosystem [J]. Rev Brasil Bot, 2002, 25(1): 93-101.
- [12] PHILLIPS J M, HAYMAN D S. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection [J]. Trans British Mycol Soc, 1970, 55: 158-161.
- [13] 刘润进,李晓林. 丛枝菌根及其应用[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 25-27.
- [14] 陈宁,王幼珊,李晓林,等. 宿主植物栽培密度对AM真菌生长发育的影响[J]. 菌物系统, 2003, 22(1): 88-94.
- [15] PEARSON J N, SCHWEIGER P. *Scutellospora calospora* (Nicol. & Gerd.) Walker & Sanders associated with subterranean clover: dynamics of colonization, sporulation and soluble carbohydrates [J]. New Phytol, 1993, 124(2): 215-220.
- [16] SOLAIMAN M D, SAITO M. Use of sugars by intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by radiorespirometry [J]. New Phytol, 1997, 136: 533-538.
- [17] PFEFFER P E, DOUDS D D, BECARD G, et al. Carbon uptake and the metabolism and transport of lipids in an arbuscular mycorrhiza [J]. Plant Physiol, 1999, 120: 587-598.
- [18] DOUDS D D, SCHENCK N C. Relationship of colonization and sporulation by VA mycorrhizal fungi to plant nutrient and carbohydrate contents [J]. New Phytol, 1990, 116: 621-627.
- [19] 李少昆,张旺峰,魏邦军,等. 不同密度玉米根系在大田土壤中的分布、重量的调节及与地上部分的关系[J]. 玉米科学, 1993, 1(3): 47-49.
- [20] 钱宝英,黎云祥,廖咏梅,等. 淫羊藿分株种群特征及其与箭叶淫羊藿空间分布的点格局分析[J]. 云南植物研究, 2005, 27(5): 479-488.

【责任编辑 柴 焰】