

## 泡桐组培苗VA菌根的研究\*

郭秀珍 赵志鹏 毕国昌

(中国林业科学研究院林业研究所) (中国科学院研究生院)

**摘要** 本文报道了用地表球囊霉对鄂川泡桐和白花泡桐的组培苗进行人工接种, 培育菌根化苗木的试验。观察了菌根的发育和分布, 并用X射线能谱仪对这种VA菌根的不同超微结构和不同部位进行了微区分析。经测定, 地表球囊霉对泡桐组培苗有显著的生长促进效益, 形成的VA菌根对P、S、Mg和Ca等元素的吸收都比对照苗要高得多。在菌根内部这些营养元素的分布也不均匀。P、S的含量在丛枝中最多, 在胞内泡囊中较少, 而在无菌丝感染的根毛细胞中最少。

**关键词** 泡桐; 组培苗; 地表球囊霉; VA菌根; 射线能谱微区分析

泡桐系材质优良的速生树种, 我国每年的种植面积不断增加。但长期来, 多采用埋根繁殖, 需要大量种根, 不仅工作和运输量繁重, 而且易导致病害发生。近年来, 繁殖优良泡桐组培苗已有报道<sup>[1]</sup>。组培苗有许多优点, 但泡桐是形成VA菌根的树种, 由于组培苗是在人工合成培养基上无菌条件下繁殖的, 缺乏VA菌根真菌的感染。没有菌根的桐苗生长较差, 抵抗力较弱, 田间缓苗期也较长。因此, 应用高效益的菌种, 尽早对泡桐组培苗进行人工接种, 是培育菌根化壮苗的重要措施之一。作者在1986至1988年用地表球囊霉对泡桐组培苗进行了接种试验, 观察了VA菌根的形成过程和超微结构的形态特征, 测定了该菌根真菌对泡桐组培苗的生长效应和对主要营养元素的吸收利用效果, 为培育泡桐组培苗的菌根化提供了科学依据。

### 一、材料和方法

1. 试材 采用鄂川泡桐(*Paulownia albiphloea* Z. H. Zhu. sp. nov.)及白花泡桐(*P. fortunei* (Seem.) Hemsl.)嫩梢茎段, 用清水冲洗干净, 在0.1%升汞溶液中消毒7~8 min, 再用灭菌水冲洗3~4遍, 最后剪成单芽茎段, 接种于培养基中。

2. 培养基与培养条件 茎段培养基: MS+6BA 1~5 mg/L+NAA 0.1~0.5 mg/L, 蔗糖30 g/L。

生根培养基: MS或1/2 MS+NAA 0.1~0.2 mg/L, 蔗糖20 g/L。

培养条件: 培养温度25~30℃, 连续光照培养; 光强约1500~2000 lx。

本文于1989年2月12日收到。

\* 本课题系“七五”国家重点攻关科技项目“菌根在林业上应用”的一部分。

本试验中部分泡桐组培苗由李江山同志提供; X射线能谱的微区分析有任介南同志参加; 张海平同志协助工作, 一并致谢。

3. 供试菌种 地表球囊霉 (*Glomus epigaeum* Daniels et Trappe) 系加拿大的 V. Furlan 和 A. Fortin 教授所赠, 繁殖在灭菌砂土上生长的三叶草根, 作为接种体。

4. 接种方法 用 8cm × 15 cm 的塑料容器, 盛装由高压灭菌的草炭 + 蛭石 + 砂 + 黄土, 按 2:1:1:1 (V/V) 比例配制的混合基质。当基质装到容器 2/3 高处时, 加入 20 g 具有地表球囊霉感染的三叶草新鲜根段及其根际的砂土, 再覆上 2~3 cm 厚的混合基质。将具有 3~5 条侧根和 3~4 个叶片的组培苗由三角瓶内取出, 洗净根上的琼脂, 移栽到容器内, 用基质覆盖好根部后, 用 1/2 稀释浓度的 Stock 营养液浇透, 放置在电热土温床上, 保持土温 22~25 °C, 相对湿度 90% 左右的半遮荫条件下生长。两周后用完全浓度的营养液每隔一周浇灌一次。

设白花泡桐、鄂川泡桐接种 VA 菌根真菌, 各以不接种作对照, 共四个处理。各处理移栽 100 株。接种后, 每隔 10 天采取三株根样混合, 用 Phillips 等的<sup>[2]</sup>方法染色处理, 在光学显微镜下观察统计 VA 菌根感染率和感染强度。在幼苗生长期定株, 定期测量苗高、根径和叶面积。

采一年生的供试桐苗鲜根段, 经液态氮冷冻、真空干燥、喷炭等处理, 制成试样, 在 SEM 505 扫描电镜下用 EDAX 9100 型能谱探测仪进行 X 射线微区分析。观察电压为 15 kV, 计数率约 500 CPS, 时间为 100 S。每个菌根超微结构的测量至少有三个以上重复。所有测定的数据均进行方差分析和 q 检验。

## 二、结果和讨论

### (一) 菌根感染

接种后 20 天, 在桐苗根表观察到有直径 2~3 μm 无分隔的菌丝入侵, 在皮层组织的细胞内也开始形成丛枝结构。在此期间内, 感染率仅为 20~30%, 很少产生泡囊, 在接种 40 天的根样中, 丛枝已较密集, 有少量胞间泡囊, 在皮层组织的细胞间还明显地观察到有 3~5 μm 粗的纵向伸延的菌丝。菌根感染率达 55~62%。接种后三个月, 感染率已高达 80% 以上, 大部分为直径约 1 mm 的细菌根, 呈浅褐色, 前半段有密集的丛枝, 而泡囊则多密集在根的后半段, 其上也能发现有新感染的丛枝群。胞间泡囊呈圆形或椭圆形, 多半着生在细菌丝的顶端, 也有串生在菌丝中间, 平均直径为 15~20 μm, 最大可达 50 μm。在泡囊中可清晰地观察到一至数个明亮的油点。胞内泡囊数量较少, 其大小和形状往往随细胞而定, 通常呈长椭圆形, 甚至近矩形, 几乎充满整个细胞腔。在皮层组织细胞间纵向伸延的粗菌丝上有许多细的菌丝分枝, 穿透细胞壁, 在细胞腔内连续分叉, 形成丛枝。发育良好的丛枝往往能占细胞腔 1/2~2/3 的体积。有时在一个细胞腔内能发现有 2 个丛枝, 显然系由两根菌丝侵入各自发育而成。

### (二) 菌根的垂直分布

从接种的泡桐幼苗根部进行系统观察表明(表 1), VA 菌根多分布在中上层 10 cm 的土壤内, 其菌根的感染率和感染强度也均随土层加深而减少。

### (三) 幼苗生长效应

在接种菌根真菌后 20 天内, 各种处理的泡桐幼苗生长情况没有显著差别。30 天后, 接种

表 1 泡桐幼苗VA菌根在不同土层内的垂直分布

土层深度 (cm)	菌 根 感 染 率			菌 根 感 染 强 度		
	观察根段 (个)	感染根段 (个)	感 染 率 (%)	观察总视野 (个)	有感染的视野 (个)	感染强度 (%)
1~5	112	91	81.2	1 120	628	56.1
6~10	97	60	61.9	970	467	48.1
11以下	89	17	19.1	890	74	8.3

幼苗与对照间出现显著差异,其苗高、根径和叶面积比对照分别大18.9%~25.9%、12.8%~17.3%和45.8%~64.7%,差异显著性均达到 $P=0.05$ 水平(表2)。而且在三个月后仍然保持着明显的生长优势,其生长情况与菌根的感染过程完全相吻合。随着幼苗菌根感染率的不断增高,幼苗的生长优势也就越来越显著。但不同泡桐种之间并没有显著的差异性( $P>0.05$ )。

表 2 泡桐组培苗接种VA菌根真菌后不同时期的生长情况

处 理		苗 高 (cm)	根 径 (mm)	叶 面 积 (cm <sup>2</sup> /株)	菌根感染率 (%)
接种后20天	白花泡桐	4.10 a <sup>①</sup>	2.10 a	37 a	20
	鄂川泡桐	3.95 a	2.00 a	40 a	30
对 照	白花泡桐	4.00 a	1.95 a	34 a	0
	鄂川泡桐	3.95 a	1.95 a	36 a	0
接种后30天	白花泡桐	7.43 a	2.55 a	86 a	62
	鄂川泡桐	7.31 a	2.51 a	84 a	55
对 照	白花泡桐	5.90 b	2.26bc	59 b	0
	鄂川泡桐	6.15 b	2.14 c	51 b	0
接种后40天	白花泡桐	24.7 a	7.08 a	657 a	84
	鄂川泡桐	25.3 a	6.60 a	649 a	81
对 照	白花泡桐	22.5 b	5.65 b	563 c	0
	鄂川泡桐	20.0 c	5.70 b	618 b	0

① 同一栏内不具有共同字母的数据,表示经 $q$ 检验差异性显著( $P=0.05$ )。

#### (四) X 射线微区分析

能谱探测仪进行X射线微区分析表明,接种VA菌根真菌的一年生泡桐组培苗,根中含有P、S、Mg、Ca的能量强度都比对照根要高(图1),含K量则低,Fe和Na差别不大。

但在VA菌根的不同微结构中,以及同一微结构的不同部位,或不同的发育阶段,P、S和K的含量也不相同。从表3可见,大部分P、S和Mg等元素集中在丛枝中。在胞内泡囊中,P、S的含量较少,但仍比无菌根根毛细胞要多。

在同一丛枝中,主干和基部的含P、S量比顶部纤细的分枝中要多;泡囊中部的含量比四周部分多;粗菌丝中的比细菌丝中多;发育旺盛的丛枝和泡囊中比消解的和凋萎的多。

综上所述,接种VA菌根真菌的泡桐组培苗,比未接种的生长好得多。因此,尽早地人工接种VA菌根真菌是繁殖优质组培苗的有效措施之一。

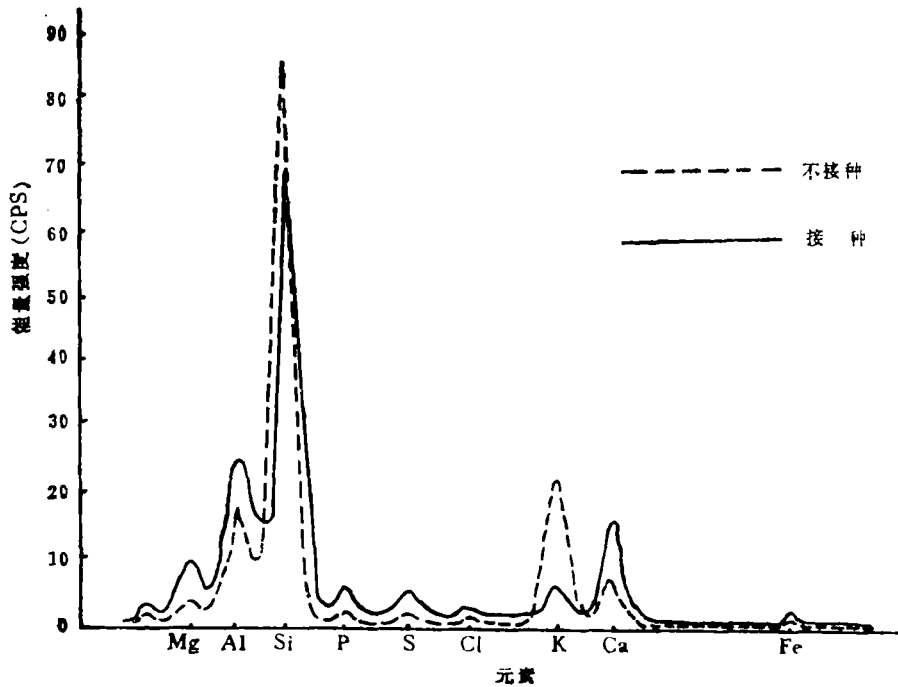


图1 一年生泡桐组培苗VA菌根和非菌根中各主要元素的能谱比较

表3 一年生泡桐组培苗VA菌根的不同超微结构中主要营养元素的能量强度比较

(单位: CPS)

元素	丛枝	胞间泡囊	胞内泡囊	外生菌丝	内生菌丝	对照苗根毛
Na	1.790	1.660	4.563	3.975	2.895	0.777
Mg	19.748 a <sup>①</sup>	6.326 cd	18.441 a	9.780 c	15.764 b	4.245 d
Al	14.545	16.930	20.438	47.980	21.329	18.203
Si	31.694	38.729	44.508	79.535	50.822	54.544
P	23.466 a	15.698 b	3.410 d	11.949 bc	6.856 c	0.050 e
S	9.504 a	5.559 b	6.282 b	5.775 b	8.844 a	4.310 c
Cl	5.403	6.663	4.453	0.815	3.310	9.424
K	18.520 b	31.186 a	16.471 b	12.739 bc	11.290 c	8.998 c
Ca	8.990 c	13.600 b	6.490 d	14.239 b	24.182 a	10.664 bc
Fe	2.940	2.687	3.723	5.005	4.400	2.565

① 同一横栏内不具有共同字母的数据表示经Q检验差异性显著( $P=0.05$ )。

地表球囊霉是泡桐良好的共生VA菌根真菌之一。从微区分析中已明显看出,VA菌根真菌菌丝能从土壤中吸取更多的P、S、Mg等营养元素,贮存在菌丝体内供寄主植物吸收利用。据报道<sup>[3,6]</sup>,菌根真菌吸收的磷素是转变为颗粒状聚磷酸盐的形式贮存在菌丝体内。但本试验所使用的X射线能谱仪,目前尚不能测出能量强度很弱的一些微量元素,如Cu、Zn、Mo、B等。也不能测定原子序11(Na)以前的一些元素,特别是N的含量。但已有文献报道,地表球囊霉对N、Cu和Zn等元素的吸收利用也是很强的<sup>[4,8-8]</sup>。

VA菌根真菌的保存和扩大繁殖方法很多。通常可采用人工培植方法,在三叶草、苏丹

草、花生、番茄、青椒、洋葱等根系发达的植物上生长，作为菌种载体，栽植在灭菌的基质砂土上，就可以很迅速地扩大繁殖这些接种体，所需费用不多，而接种菌根后的经济效益较大。此外，也可采用含 VA 菌根真菌比较丰富的相应植物根系及其根际土壤进行自然接种。

### 参 考 文 献

- [1] 李峰等, 1987, 泡桐、葡萄离体快速繁殖, 泡桐, 2: 30~34.
- [2] Phillips, J. M. et al., 1970, Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of inoculation, *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 55: 158~161.
- [3] Callow, J. A. et al., 1978, Detection and estimation of polyphosphate in vesicular-arbuscular mycorrhizas, *New Phytol.*, 80: 125~134.
- [4] Cooper, K. M. et al., 1978, Translocation and transfer of nutrients in VA mycorrhizas. II. Uptake and translocation of phosphorus, zinc and sulphur, *New Phytol.*, 81: 43~53.
- [5] Cox, G. et al., 1976, Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. I. The arbuscule and phosphorus transfer: a quantitative ultrastructural study, *New Phytol.*, 77: 371~378.
- [6] 毕国昌等, 1986, VA 菌根和施锌浓度对柃麻生长的影响, 中国科学院研究生院学报, 3(1): 80~86.
- [7] 郭秀珍等, 1984, VA 菌根和不同施磷水平对柃麻的生长效应, 第六届北美菌根学术会议论文集, 414, Oregon, USA.
- [8] 郭秀珍等, 1988, 泡桐丛枝状 VA 菌根对葡萄组培苗的生长效应, 园艺学报, 15(2): 77~81.
- [9] Schoknecht, J. D. et al., 1976, X-ray microanalysis of elements in cells of VA mycorrhizal onions, *Mycologia*, 68: 296~303.

## A STUDY ON VA MYCORRHIZAE FORMED ON THE TISSUE-CULTURED PLANTLETS OF PAULOWNIA

Guo Xiuzhen Zhao Zhipeng

(The Research Institute of Forestry CAF)

Bi Kuochang

(Graduate School of Academia Sinica)

**Abstract** Tissue-cultured plantlets of 2 Paulownia species (*Paulownia fortunei* (Seem.) Hemsl. and *P. albiphloea* Z. H. Zhu, sp. nov.) were inoculated with *Glomus epigaeum* Daniels & Trappe in containers containing mixed substrate of peat-vermiculite-sand-soil (2:1:1:1 v/v). After 30 days of inoculation, growth of plantlets between the inoculated and uninoculated treatments showed a significant difference in shoot height, collar diameter and foliage area, but there was no difference between the species. The observation of vertical

distribution of VA mycorrhizae on the root system of Paulownia seedlings showed that most of VA mycorrhizae were concentrated in the top 10 cm soil layer. The morphology and fine structures of these mycorrhizae were also studied by light and scanning electron microscopes. The distribution of several nutrient elements in these mycorrhizae was detected with X-ray microanalysis, spectra of which showed that arbuscules, vesicles and hyphae contained more P, S, Mg and Ca than the uninoculated plantlets did.

**Key words** Paulownia; tissue-cultured plantlets; *Glomus epigaeum*; VA mycorrhizae; X-ray microanalysis

### “云南余甘子种质资源调查”通过鉴定

由云南省经委列项,中国林业科学研究院资源昆虫研究所承担的“云南省余甘子种质资源调查”,在省经委和省林业厅的共同主持下,于1989年8月通过鉴定。同行专家评定该项成果属国内先进水平。

“云南省余甘子种质资源调查”主要内容有:①对余甘子主要分布区楚雄和临沧地区等42个县进行了调查研究,实测集中联片面积19.6万亩,估测分布面积95.3万亩,果实产量约5 500~6 400 t;②按余甘子形态和经济性状的不同划分了6个类群30个品类,这在国内还属首次;③揭示了余甘子集中分布地带的土壤、气候、植被等生态条件和自然分布规律,进而建立了云南省第一个良种采穗圃,为保护、选优改良和合理开发利用余甘子资源提供了科学依据。

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所 张玲)

### 《林木菌根及应用技术》征订启事

《林木菌根及应用技术》一书由中国林业科学研究院研究员郭秀珍等编写,系统地介绍了菌根的基本概念、生物学特性、研究方法及应用技术。同时汇集了几十年来国内外在菌根研究和应用方面的重要成果。本书实用价值较大,可供农林院校及综合性大学生物系师生、有关科研机构 and 生产部门的科技人员参考。

本书于1989年12月初由中国林业出版社出版,约20余万字,每册4.35元,欢迎单位及个人订阅。欲订者请速将书款汇到:北京颐和园后中国林科院林研所病理室赵志鹏,邮政编码:100091。银行汇款:北京海淀农行,帐号:501-37-30中林公司收;并注明是购此书。汇款时请附加包装邮寄费,0.5元/册。