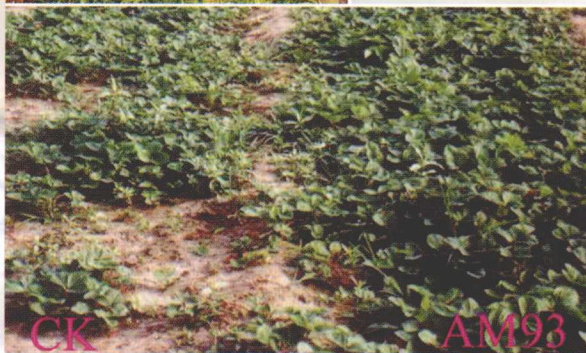
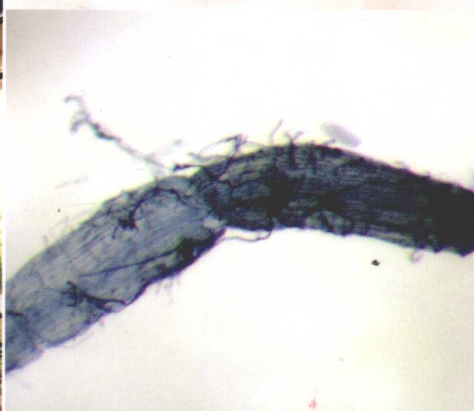


中国丛枝菌根真菌资源 与种质资源

王幼珊 张淑彬 张美庆 著



CK

AM93



 中国农业出版社

中国丛枝菌根真菌资源 与种质资源

Zhongguo Congzhijungen Zhenjun Ziyuan

Yu Zhongzhi Ziyuan

王幼珊 张淑彬 张美庆 著



中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

中国丛枝菌根真菌资源与种质资源/王幼珊, 张淑彬, 张美庆著. —北京: 中国农业出版社, 2012. 2
ISBN 978-7-109-16504-5

I. ①中… II. ①王…②张…③张… III. ①菌根菌
一种质资源—研究—中国 IV. ①Q949.32

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 007495 号

中国农业出版社出版
(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100125)

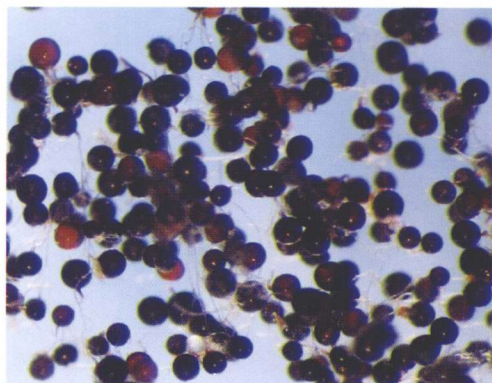
责任编辑 贺志清

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行
2012 年 3 月第 1 版 2012 年 3 月北京第 1 次印刷

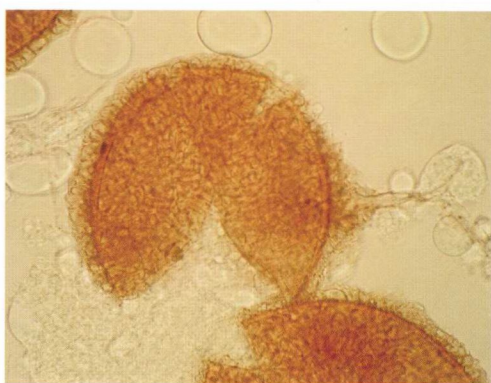
开本: 787×1092mm 1/16 印张: 17.25 插页: 2
字数: 412 千字 印数: 1~1 000 册

定价: 66.00 元

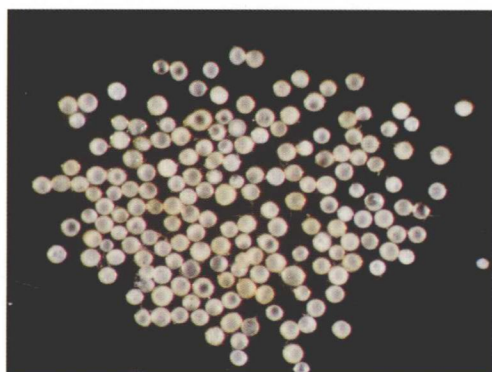
(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)



彩图1 *Glomus constrictum*



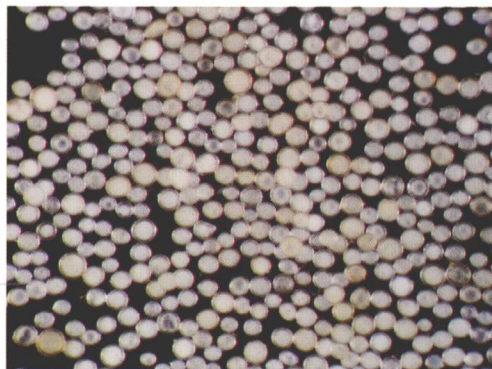
彩图2 *Glomus tortuosum*



彩图3 *Glomus claroideum*



彩图4 *Glomus etunicatum*



彩图5 *Glomus lamellosum*



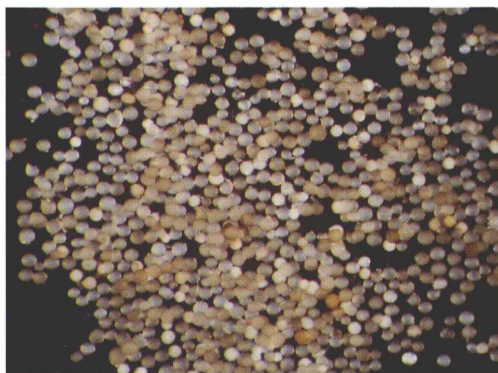
彩图6 *Glomus mosseae*



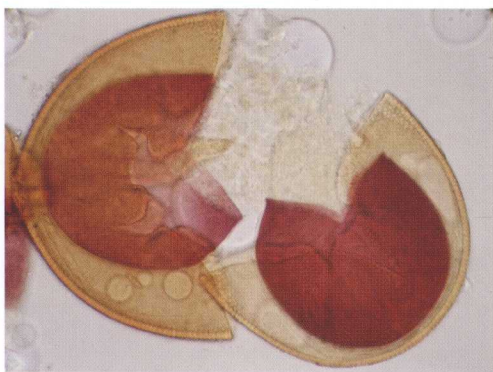
彩图7 *Glomus macrocarpum*



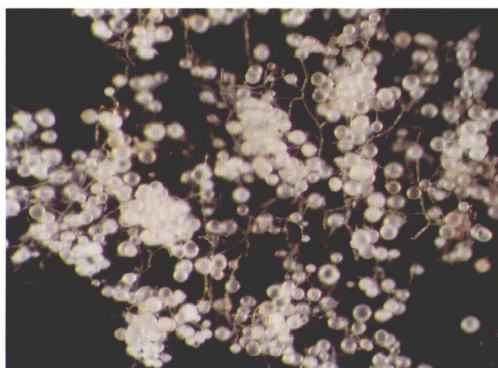
彩图8 *Glomus sinuosum*



彩图9 *Acaulospora scrobiculata*



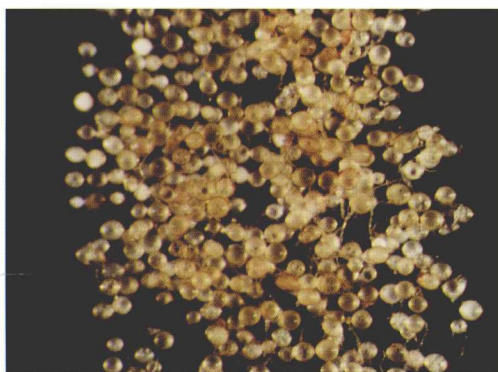
彩图10 *Acaulospora scrobiculata*



彩图11 *Glomus aggregatum*



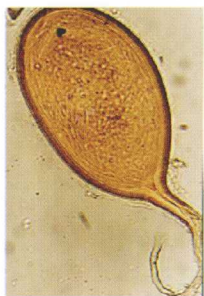
彩图12 *Glomus aggregatum*



彩图13 *Glomus intraradices*



彩图14 *Glomus intraradices*



彩图15 *Glomus dolichosporum*



彩图16 丛枝菌根真菌在黄瓜根上形成的侵入点、
丛枝、泡囊和根外菌丝



彩图17 BGC温室



彩图18 BGC实验室



彩图19 BGC光照室



彩图20 BGC光照室



彩图21 BGC显微镜室



彩图22 BGC菌种保藏库



彩图23 AM真菌在防治甜瓜根结线虫上的应用



彩图24 AM真菌在矿区复垦中的应用
(接种前)



彩图25 AM真菌在矿区复垦中的应用
(接种当年)



彩图26 AM真菌在矿区复垦中的应用
(接种第二年)



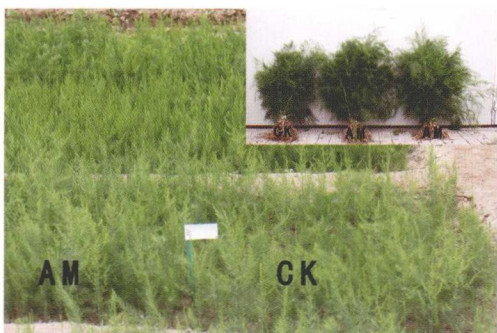
彩图27 AM真菌在大棚甜瓜上的应用



彩图28 AM真菌在草莓组培育苗中的应用



彩图29 AM真菌在草莓组培育苗中的应用



彩图30 AM真菌在芦笋育苗中的应用



彩图31 AM真菌在大棚芹菜中的应用

序 一

互惠共生意为两种生物生活在一起，相互依赖、双方受益，是生物存在的一种形态。共生在自然界中，无论动物、植物或微生物中都有存在。在细菌和真菌中众所周知的共生现象就是根瘤菌和菌根菌。以豆科植物为例：豆科植物和根瘤细菌共生，植物吸收根瘤菌从空气中固定的氮素，根瘤菌则从植物中得到碳水化合物，并完成其生活史。此外，豆科植物还可和丛枝菌根真菌共生，得到菌根菌传递过来的磷素及其他矿质元素营养，改善水分代谢，提高植株抗性，而菌根菌也可从植物得到碳水化合物营养，并完成其生活史。这两种微生物可以同时侵染一株豆科植物，根瘤菌侵入根后形成根瘤，细菌在根瘤内生长发育；而丛枝菌根真菌侵入根后则在根皮层内延伸菌丝，形成丛枝和泡囊，两种微生物相处无碍，相得益彰。由于共生双方互惠，互相帮助，其生活力优于非共生者，它们对自然生态和农业生产的贡献是显而易见的。因而，世界各国对这类有益微生物的研究都十分重视，尤其是丛枝菌根真菌，近 20 年来研究十分活跃，发展异常迅速。

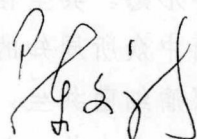
微生物研究或应用中最基本、最重要的是菌种问题。首先要有相对应的菌种，即：能和目标植物相匹配的菌种，此外要注意采用优良菌种，因此菌种保藏单位的任务非常艰巨。而丛枝菌根真菌的菌种选育、繁殖、保藏及复壮等工作则更为繁复，因为这类真菌不能用人工培养基在试管、平皿或发酵罐内繁殖培养，每一次都要播种植物，通过一次共生过程才能完成。由于它的操作方法、所用器皿、材料和普通微生物菌种保藏完全不同，因此丛枝菌根真菌的菌种保藏单位自其建立之初就独立于所有工业、农业、医药微生物菌种保藏之外。从 20 世纪 80 年代开始，国外先后投资建立了各自的丛枝菌根真菌菌种保藏中心，为这类真菌的研究发展提供了保障。

我国的丛枝菌根真菌菌种保藏中心是北京市农林科学院植物营养与资源研究所在多年全国资源调查的基础上，完成了一项国家基金课题后建立的。它在保障菌种纯度、保证一些单位研究所需等方面起到了不可或缺的作用。几年来，经室主任王幼珊同志多方努力筹措资金，使中心有了一定规模的发展，实属难能可贵。

由王幼珊等人所著《中国丛枝菌根真菌资源与种质资源》一书，在总结丛枝

菌根真菌分类的历史发展过程、汇总我国已报道的丛枝菌根真菌菌种的前提下，着重介绍了中国丛枝菌根真菌种质资源库（Bank of Glomeromycota in China，简称BGC）的建成和菌种保藏、设备与对外服务等状况，尤其难得的是将他们实验室经常应用的许多菌种资源收集、测定与保藏的常规方法详细地、无保留地传授出来，这将给初入门研究者以极大的方便，也有利于研究方法规范化。

中国科学院院士
中国农业大学生物学院教授
2011年10月



《中国丛枝菌根真菌资源及种质资源》一书是由北京市农林科学院植物营养与资源研究所王幼珊、张淑彬、张美庆编著的一部优秀专著。丛枝菌根是自然界最广泛分布的一类菌根，书中系统地介绍了这类真菌的研究方法与应用，对促进农、林、牧业的持续发展、改善环境、保护生物多样性和稳定生态系统具有重要意义。我国丛枝菌根的研究，从20世纪70年代后期开始，从资源与生物多样性、生理效应、菌剂生产与应用等方面开展了大量系统的研究工作，也开始了分子水平的研究。该书侧重于资源分布、收集与评价研究的介绍。

本书的作者经过20余年的努力，在我国北方、东南沿海、西南等地区AM真菌资源调查的基础上，与中国农业大学资源与环境学院合作完成了“中国丛枝菌根真菌种质资源库和数据库”国家基金项目。2003年在北京市农林科学院植物营养与资源研究所建成了我国最早的、最大的、拥有我国自主知识产权的丛枝菌根真菌种质资源库（Bank of Glomeromycota in China，简称BGC），从而使AM真菌的菌种资源收集与保藏工作有了进一步扩大和提升。

《中国丛枝菌根真菌资源及种质资源》一书共分四章，详细介绍了实验室应用的常规方法，有广泛而长远的基础理论和应用意义。

中国农业大学原校长

中国农业大学资源与环境学院博士生导师

北京土壤学会荣誉理事长

国务院学位委员会全国农业推广硕士专业学位教育指导委员会主任委员

毛达如教授

2011年10月

前言

丛枝菌根 (AM) 是自然界分布最为广泛的一类菌根, 丛枝菌根的研究与应用不仅可以丰富生物学与微生物学的理论与方法, 而且对促进农林牧业的持续发展、改善环境、保护生物多样性和稳定生态系统具有重要意义。我国自 20 世纪 70 年代后期开始丛枝菌根研究以来, 在资源与生物多样性、生理效应及生态学、菌剂生产与应用等方面开展了大量的、系统的研究工作, 近年来许多研究已经进入分子水平。

我国地域广阔, 植物资源丰富, 生态环境复杂, 因而 AM 真菌的物种十分丰富。长期以来, 由于人力、物力的限制, 我国丛枝菌根真菌的资源调查和研究一直比较零星, 缺乏系统性和深入性。特别是资源收集、评价与利用的研究与欧美等国家差距更大。我们经过 20 余年的努力, 在对我国北方、东南沿海、西南、华中等地区 AM 真菌资源调查及研究的基础上, 与中国农业大学资源与环境学院协作, 由国家基金“中国丛枝菌根真菌种质资源库和数据库的建立”(30070028) 项目资助, 于 2003 年在北京市农林科学院植物营养与资源研究所建成了我国最早的、最大的、拥有我国自主知识产权的“丛枝菌根真菌种质资源库 (Bank of Glomeromycota in China, 简称 BGC)”。此后, 在北京市有关部门及科技部国家微生物菌种资源平台项目等多方面的支持下, 使 AM 真菌的菌种资源收集与保藏工作进一步扩大和提升, 到 2010 年底 AM 真菌资源保藏总量达到 5 个属 25 个种共 136 株, 在中国农业微生物菌种保藏管理中心 (ACCC) 菌库和“中国科技资源共享网”微生物菌种资源共享数据库中, 实现了微生物菌种资源与信息共享。在 AM 真菌菌种资源保藏的同时, 还在菌种资源功能评价、菌剂生产工艺与应用等方面开展了深入研究, 积累了大量资料, 为我国丛枝菌根真菌的研究与使用者提供了急需的菌种资源, 在我国丛枝菌根学科研究与应用方面发挥了重要作用。

近年来, 随着我国生态经济的发展, 菌根的研究与应用越来越引起生物学界的高度重视, 广大菌根研究者对菌根资源与应用技术的需求十分迫切。为满足读者的需求, 本书以我国菌根研究者的资源调查结果为主要资料, 以我们 20 余年积累的研究经验与成果为基础, 系统总结了我国迄今报道的所有 AM 真菌资源的属、种描述与分布状况。全面介绍了“丛枝菌根真菌种质资源库 (BGC)”的建立、菌种保藏、设备与对外服务等状况。以图文并茂的形式系统地介绍了 AM 真菌菌种资源收集与保藏的详细方法, 汇总了 BGC 菌种功能评价与应用的研究结果。全书共分四章, 第一章, 中国丛枝菌根真菌资源; 第二章, 中国丛枝菌根真菌种质资源库; 第三章, 丛枝菌根真菌菌种资源的收集与保藏方法; 第四章, 丛枝菌

根真菌种质资源库 (BGC) 菌种的评价与应用。书中特别详细地介绍了本实验室经常应用的常规研究方法。希望此书的出版对我国丛枝菌根真菌资源研究、收集保藏与评价工作的开展有所贡献, 能为广大菌根研究工作者和学习者提供帮助。鉴于作者水平有限, 书中难免有缺点和不妥之处, 敬请读者批评指正。

借本书出版之际, 向北京市农林科学院领导和植物营养与资源研究所领导的多年支持与关注表示谢意。向国家自然科学基金、科技部国家微生物菌种资源平台项目、北京市科学技术委员会、北京市财政专项、北京市自然科学基金对研究工作提供的资助表示衷心的感谢。本书能够出版还和参与菌种评价研究工作的同事、老师和学生邢礼军、倪小会、弓明钦、胡正嘉、陈宁、张旭红、任萌圃、纪晶晶、王鹏、王红菊等的贡献密不可分, 在此一并致谢! 向中国农业出版社的编辑为本书出版付出的辛勤劳动表示谢意。

作者

2011年10月于北京

目 录

序一	
序二	
前言	

第一章 中国丛枝菌根真菌资源

第一节 丛枝菌根真菌的系统分类	1
第二节 中国丛枝菌根真菌资源的属种描述与分布	5
一、无梗囊霉属	5
二、原囊霉属	25
三、多样孢囊霉属	27
四、内养囊霉属	28
五、巨孢囊霉属	30
六、球囊霉属	34
七、内生囊霉属	87
八、和平囊霉属	87
九、类球囊霉属	90
十、盾巨孢囊霉属	91

第二章 中国丛枝菌根真菌种质资源库

第一节 丛枝菌根真菌种质资源库 (BGC) 概况	105
一、BGC 的建立与发展	105
二、丛枝菌根真菌菌种资源数据库的建立	107
三、BGC 的组织形式与人员结构	107
第二节 BGC 菌种保藏状况	108
一、BGC 菌种保藏状况	108
二、BGC 菌种目录	111
第三节 BGC 的实验室规模与设备	119
一、温室	120
二、光照培养室	120
三、实验室	121
四、显微镜室	121
五、菌种保藏库	121
第四节 BGC 的对外服务情况	121

一、BGC 菌种的对外提供	122
二、菌种委托保藏与捐赠保藏	145
三、菌种鉴定、人员培训及合作研究	146
第五节 BGC 与其他保藏机构的联系	147
一、中国农业微生物菌种保藏管理中心 (ACCC)	147
二、国际丛枝菌根真菌种质资源保藏中心 (INVAM)	148

第三章 丛枝菌根真菌菌种资源的收集与保藏方法

第一节 丛枝菌根真菌菌种资源的收集	150
一、丛枝菌根真菌的野外调查及样品采集	151
二、孢子的分离提取	153
三、清洁孢子的分离	155
四、诱导培养	155
五、单孢培养	156
六、扩繁培养	159
七、收获与重种	160
第二节 丛枝菌根真菌菌种分离培养中的质量控制	161
一、宿主的选择与种子消毒	161
二、基质的选择与基质灭菌	162
三、培养容器的选择与消毒	162
四、生长管理的质量控制	163
五、取样检查、收获、重种等操作的质量控制	164
六、光照室和温室的质量控制	164
第三节 保藏方法	164
第四节 丛枝菌根真菌的测定	165
一、侵染率的测定方法	166
二、根外菌丝的测定方法	168
三、菌根长度	169
四、孢子计数	170
五、AM 真菌繁殖体数量的测定 (MPN 法和 MIP 法)	171
第五节 AM 真菌的制片	174
一、永久性制片	174
二、标本储藏	175
第六节 试剂配制	175

第四章 丛枝菌根真菌种质资源库 (BGC) 菌种的评价与应用

第一节 BGC 保藏的 4 个 AM 真菌菌株生态适应性研究	177
一、丛枝菌根真菌对不同宿主植物的适应性	177
二、丛枝菌根真菌对基质盐分的适应性研究	181

三、AM 真菌对基质水分的适应性	183
四、AM 真菌对土壤肥力的适应性	189
五、AM 真菌对基质 pH 的适应性	192
第二节 BGC 保藏的 7 个 AM 真菌菌株在观赏植物组培苗移栽中的作用	195
一、AM 真菌对金叶连翘组培苗生长效应的研究	195
二、真菌对玉簪组培苗生长效应的研究	201
三、AM 真菌对火鹤组培苗生长效应的研究	206
第三节 BGC 保藏的 8 个 AM 真菌菌株在露天煤矿土壤修复中的作用	211
一、沙打旺为宿主植物的 AM 真菌的筛选	211
二、苜蓿为宿主植物的 AM 真菌筛选	215
第四节 BGC 保藏的 7 个 AM 真菌菌株对根结线虫病害的防治效应	219
一、接种 AM 真菌 60d 时对黄瓜根结线虫的防治效应	220
二、接种 AM 真菌 90d 时对黄瓜根结线虫的防治效应	223
第五节 BGC 保藏的 4 个 AM 真菌菌株在不同育苗基质中的侵染	227
一、AM 真菌菌种在多草炭育苗基质中侵染	227
二、AM 真菌菌种在无草炭或少草炭育苗基质中的侵染	235
第六节 BGC 丛枝菌根真菌菌种资源的田间应用效应	239
一、AM 真菌在草莓组培苗育苗中的应用效果	239
二、AM 真菌在芹菜中的应用效果	242
三、AM 真菌在香蕉中的应用效果	244
四、AM 菌剂和细菌肥料对水稻生长的影响	245
五、AM 真菌在芦笋育苗中的应用效果	247
六、接种 AM 菌剂对花卉生长的影响	248
七、AM 真菌在几种蔬菜上的应用效果	250
八、AM 真菌在露天煤矿排土场的应用效果	252
九、AM 真菌在大棚甜瓜上的应用效果	256
参考文献	259

第一章

中国丛枝菌根真菌资源

我国地域辽阔，气候与生态环境复杂，土壤类型和植物种类繁多，丛枝菌根（AM）真菌资源和多样性十分丰富。到 2011 年在我国发现的丛枝菌根真菌有 10 个属 131 个种：无梗囊霉属 *Acaulospora* 28 个种，原囊霉属 *Archaeospora* 3 个种，多样孢囊霉属 *Diversispora* 1 个种，内养囊霉属 *Entrophospora* 4 个种，巨孢囊霉属 *Gigaspora* 6 个种，球囊霉属 *Glomus* 64 个种，内生囊霉属 *Intraspora* 1 个种，和平囊霉属 *Pacispora* 5 个种，类球囊霉属 *Paraglomus* 2 个种，盾巨孢囊霉属 *Scutellospora* 17 个种。本章归纳和列举了各个种的详细形态描述、发现地及宿主植物种类。

第一节 丛枝菌根真菌的系统分类

丛枝菌根（AM）真菌广泛分布于土壤中，是一类专性活体营养共生菌，即：只有与活体植物根系建立共生体系后才能正常地生长、发育、繁殖并完成其生活史。由于分类方法的局限，对这类真菌的系统发育和进化并不十分清楚，因而它们的分类位置及状况总是显得模糊、混乱。近年来由于各种先进技术特别是分子生物学手段在分类鉴定中的应用，这类真菌的系统分类已经发生了巨大变化。研究证明它们是一类在起源和演化上相对独立的真菌，因而，在经历了几次变革后，其分类地位已经从 Link1809 年设立的内囊霉属 *Endogone* 提升到现在的球囊霉门 *Glomeromycota*，如此频繁的变动反映了科学迅猛发展和这门学科研究的活跃。在这 200 年中，丛枝菌根真菌的系统分类大致经历了 4 个阶段：

第一阶段（1974 年前）：

1809 年	Link	设内囊霉属 <i>Endogone</i> （AM 真菌归于其内）。
1845 年	Tulasne & Tulasne	第一次描述了球囊霉属 <i>Glomus</i> 的特征。
1873 年	Berkeley & Broom	设硬囊霉属 <i>Sclerocystis</i> 。
1922 年	Thaxter	设内囊霉科 <i>Endogonaceae</i> 、内有 <i>Endogone</i> 、 <i>Sclerocystis</i> 、 <i>Glaziella</i> 、 <i>Sphaerocreas</i> 共 4 属。
1935 年	Zycha	将 <i>Sphaerocreas</i> 并入 <i>Endogone</i> 。

在这阶段中，虽然描述了部分 AM 真菌，但仅将其视为一般土壤真菌，直至 1923 年 Peyronel 才证明该科真菌与菌根的联系。

第二阶段（1974—1990 年）：

1974 年	Gerdemann & Trappe	将 <i>Endogone</i> 分为 4 属： <i>Endogone</i> 、 <i>Glomus</i> 、 <i>Modicella</i> 和 <i>Gigaspora</i> 。新设无梗囊霉属 <i>Acaulospora</i> ，加上原来的 <i>Sclerocystis</i> 和 <i>Glaziella</i> 共 7 属。
--------	--------------------	--

1979 年	Benjamin	将内囊霉科由毛霉目归入由 Moreau (1953) 设立、但未进行拉丁描述的内囊霉目 Endogonales 中 (仅含内囊霉科 1 个科), 并对该目进行了拉丁文描述, 使其得以合法化。
1979 年	Ames & Schneider	设立内养囊霉属 <i>Entrophospora</i> 。
1982 年	Trappe & Schenck	将 <i>Modicella</i> 从 Endogonaceae 中移出。
1984 年	Gibson	将 <i>Glaziella</i> 从 Endogonaceae 中移出。
1986 年	Walker & Sanders	从 <i>Gigaspora</i> 中分出盾巨孢囊霉属 <i>Scutellospora</i> 。
1989 年	Pirozynski & Dalpe	设立球囊霉科 Glomaceae, 内含 <i>Glomus</i> 和 <i>Sclerocystis</i> 两属。

这个阶段中, 内囊霉科经过几次增减仍为 7 个属。在此期间, C. Walker (1983) 总结了 8 种孢壁类型并提出了种的壁结构式, 使描述走向规范化。但后来发现, 由于孢子的不同年龄、储存时间、储存条件、有无寄生物、所用载液及制片状况等影响壁层之间的关系, 很难用一种结构式来表示种的孢壁结构, 所以现在已经不用。

第三阶段 (1990—2000 年):

1990 年	Morton & Benny	设立球囊霉目 Glomales, 下设 2 个亚目, 3 个科, 6 个属, 并将内囊霉属 <i>Endogone</i> 移出。
1990 年	Almeida & Schenck	将硬囊霉属除帚状硬囊霉 <i>Sclerocystis coremioides</i> 外的 5 个种移至球囊霉属。
2000 年	Redecker	将帚状硬囊霉 <i>Sclerocystis coremioides</i> 最后归于球囊霉属。

本阶段中, 由于 Morton & Benny 的工作, 使分类方法有了很大提高。长期以来研究者只能以孢子形态特征、形成方式、发芽方式及孢壁对 Melzer's 试剂的反应等作为分类依据。这种对形态特征的描述是静止的、孤立的, 一定程度上存在着局限性、偶然性和不一致性, 它受材料年龄、采集地及其生态状况的影响及制玻片标本时所用载液、制片技术的影响。此外, 不同的人对标本的观察和描述亦不尽相同, 当然, 其中人们的经验起了很大作用。而 Morton 等人建议孢子的形态特征与其发育过程相联系, 以动态的观点来分析, 从而发展出一些新概念, 并将丛枝菌根真菌的分类系统作了大的变动。

第四阶段 (2000 年后):

2001 年	Morton & Redecker	新设原囊霉科 Archaeosporaceae 和类球囊霉科 Paraglomaceae。
2001 年	Schüßler 等	将 AM 菌根真菌的分类地位上升到门。建立球囊霉门 Glomeromycota, 下设 1 纲 4 目 7 科 9 属。
2002 年	Schüßler 等	将与兰细菌共生的梨形地管囊霉 <i>Geosiphon pyriformis</i> 从接合菌门移到球囊霉门。
2001 年	Schüßler	新设地管囊霉科 Geosiphonaceae。