

# 说明书

## 一种培养丛枝菌根真菌的接种菌的方法及装置

### 技术领域

5 本发明涉及接种菌培养，更具体地说，涉及一种培养丛枝菌根真菌的接种菌的方法及装置。

### 背景技术

丛枝菌根真菌 (*Arbuscular Mycorrhizal Fungi*, *AMF*) 属于真菌类，典型的  
10 例如摩西球囊霉 (*Glomus mosseae*, *GM*)、光壁无梗囊霉 (*Acaulospora laevis*,  
*AL*) 等。AMF 必须与寄主植物的根一起生长，其生长特点是，菌丝在根部皮层的  
细胞间和细胞内生长，可分离成复杂的细胞内的分岔的丛枝，该结构仅存在于  
繁殖有 AMF 的根中。已知菌根交感对寄主植物有益，菌根与寄主植物的共生  
关系在植物领域广泛存在，包括许多农艺及生态学上的重要植物。AMF 可从土  
15 壤中捕获并传输矿质营养物 (主要是磷)，从而提高植株生长速度。当 AMF 存  
在时，植株对其他营养物，例如锌、铜等的吸收也会增加。除了提高生长速度，  
一种耐重金属的 AMF 可提高寄主植物对重金属的耐受能力。实验证明，通过在  
田间应用耐重金属的 AMF，可使作物生长更加茂盛。

目前，主要通过土壤、沙或营养液培养 AMF 的接种菌。但是这些方法面临  
20 的首要问题是，在培养过程中由于受到土壤或营养液中微生物的污染而无法获  
得纯粹的接种菌，不便于贮藏和运输。此外这些方法各自还存在一些弊端，例  
如：土栽尤其难以隔离土壤中的孢子和菌根；沙栽比土栽相对要好，但仍存在  
上述问题；而利用营养液培养时，水下环境不利于 AMF 的良好生长。

因此需要一种新的培养 AMF 接种菌的方法，从而提高 AMF 接种菌的纯度。

25

### 发明内容

本发明的目的在于提供一种培养 AMF 接种菌的装置，旨在解决现有技术中  
培养的 AMF 接种菌的纯度较低的问题。

30 本发明的目的还在于提供一种培养 AMF 接种菌的方法，以更好地解决现有  
技术中存在的上述问题。

为了实现发明目的，所述培养从枝菌根真菌的接种菌的装置，即气栽室，包括一个不透明的盒子及盒盖，所述盒盖具有至少一个用以固定寄主植物的孔，盒内安装有寄主植物的根喷洒气雾的喷雾系统。

5 优选地，所述盒子用不透明材料制作而成，或者由透明材料制作的盒子与包装在外的不透明的塑料袋组合而成。

优选地，所述盒子的规格如下：尺寸为65\*45\*43cm，容量为60L。

优选地，所述盒盖用聚苯乙烯板或塑料板制作而成。

优选地，所述盒盖的厚度为8mm。

优选地，所述盒盖上具有多个孔，各孔之间以规则的栅格图形隔离。

10 优选地，所述喷雾系统包括离心泵、喷嘴和计时器；

所述离心泵具有可调节的泵速控制器；

所述喷嘴与离心泵相连，用于向寄主植物喷洒气雾；

所述计时器与离心泵相连，用于控制喷洒气雾的时间间隔。

15 为了更好地实现发明目的，还提供了一种培养从枝菌根真菌的接种菌的方法，包括以下步骤：

A. 将从枝菌根真菌接种到所选定的寄主植物中；

B. 将所述寄主植物固定到气栽室的盒盖上，其根保持在气栽室内，利用喷雾系统喷洒气雾进行培养。

优选地，所述步骤A中的接种包括：

20 A1. 在一个填充有蛭石的塑料袋中，使加入的丛枝菌根真菌的接种菌与蛭石的表层混合，产生一个稀释后的接种菌均衡层；

A2. 在上层蛭石的表面播种寄主植物的种子，当寄主植物的根部进入所述接种菌均衡层时，接种菌的菌丝在所述寄主植物根部皮层的细胞间和细胞内生长。

优选地，喷雾系统每10秒钟向所述寄主植物的根喷洒一次气雾。

25 本发明通过一个不透明、盒盖打孔、内置喷雾系统的气栽室，利用气栽法培养从枝菌根真菌的接种菌，提高了从枝菌根真菌的接种菌的纯度，便于贮藏和运输。

## 附图说明

30 图1是本发明中培养AMF接种菌的装置（即气栽室）的结构示意图；

图2是本发明中将AMF接种到所选定的寄主植物中的示意图；

图3是本发明中培养AMF接种菌的方法流程图。

### 具体实施方式

为了使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白，以下结合附图及实施  
5 施例，对本发明进行进一步详细说明。应当理解，此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明，并不用于限定本发明。

本发明通过一个不透明、盒盖打孔、内置喷雾系统的气栽室，利用气栽法  
10 培养从枝菌根真菌的接种菌，首先将AMF接种到所选定的寄主植物中，然后将寄主植物固定到气栽室的盒盖上，其根保持在气栽室内，利用喷雾系统喷洒气雾进行培养。这种培养方法提高了AMF接种菌的纯度。

图1是本发明中培养AMF接种菌的装置（即气栽室）的结构示意图。该气栽室包括一个不透明的盒子3及盒盖2，该盒盖具有至少一个用以固定寄主植物的孔1，盒内安装有为寄主植物的根喷洒气雾的喷雾系统。其中：

（1）盒子3不透明，是为了防止阳光射入气栽室，从而阻碍营养液中微藻  
15 的生长。盒子3的材料及构成方式有多种，在一个实施例中，盒子3是由一定尺寸和容量的盒子和不透明的塑料袋组合而成。在另一实施例中，盒子3直接用不透明材料（例如不透明的塑料）制成。盒子3的尺寸也有多种方案，在一个典型实施例中，其尺寸为65\*45\*43cm，容量为60L。

（2）盒盖2的材料及规格有多种方案。在一个实施例中，盒盖2用8mm厚的  
20 聚苯乙烯板特制而成，当然还可采用其他材料，例如塑料板等。

（3）盒盖2上的孔1用于固定寄主植物，使其根部位于气栽室内。孔1数量及尺寸有n种方案。在一个实施例中，盒盖2上有24个孔1，每个孔1的直径为2.5cm，且各孔之间以规则的栅格图形隔离。

（4）喷雾系统包括离心泵7、喷嘴4和计时器（图中未示出），以及水管5。  
25 盒底装有营养液6，供离心泵7抽取并通过喷嘴4喷洒到寄主植物的根部。其中：离心泵7是一个单独的玻璃缸离心泵，具有可调节的泵速控制器（图中未示出）；喷嘴4与离心泵7相连，用于向寄主植物喷洒气雾；计时器与离心泵7相连，用于控制喷洒气雾的时间间隔，例如设定为每10秒钟向所述寄主植物的根喷洒一次气雾。

30 本发明中，营养液6具有多种配比方案。该营养液6典型可为霍格兰氏营养

液 ( Hoagland's solution , HS ) , 为了促进从枝菌根真菌和寄主植物间的共生关系的发展 , 需减少霍格兰氏营养液中可溶性磷的含量。营养液6可利用去离子水来制备 , 因为其含有有毒微量元素的可能性最低。在具体应用中 , 一般可制备六份单独的常量营养素贮备液 , 并存放在4°C条件下 , 稀释到原始浓度的30% , 5 作为可施用的营养液。在使用前 , 用0.5 摩尔 ( molar , 简作m ) 的氢氧化钠和1.0 m的盐酸将营养液的PH值调整到6.5 , 因为低PH值将抑制根的延展 , 并导致枝叶坏死 , 而高PH值导致植株难以将营养摄取 , PH值在6.5对大多数植物都比较合适。

在一个实施例中 , 六份单独的常量营养素贮备液分别是 : 磷酸二氢钾 (  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  )、硝酸钾 (  $\text{KNO}_3$  )、硝酸钙 (  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  )、二胺四乙酸铁钠 (  $\text{NaFeEDTA}$  )、氯化钠 (  $\text{NaCl}$  )、硫酸镁 (  $\text{MgSO}_4$  )。而微量元素则包括硼酸 (  $\text{H}_3\text{BO}_3$  )、四水氯化锰 (  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  )、七水硫酸锌 (  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  )、五水硫酸铜 (  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  )、二水钼酸钠 (  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ) 等 , 其含量如下表所示 :

贮备液	混合物重量(g /L)	贮备液浓度
常量营养素贮备液 1	1.36	0.01M $\text{KH}_2\text{PO}_4$
常量营养素贮备液 2	101.11	1.0M $\text{KNO}_3$
常量营养素贮备液 3	236.15	1.0M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$
常量营养素贮备液 4	36.7	0.1M $\text{NaFeEDTA}$
常量营养素贮备液 5	5.84	0.1M $\text{NaCl}$
常量营养素贮备液 6	246.48	1.0M $\text{MgSO}_4$
微量元素	2.86	46.25 $\mu\text{M}$ $\text{H}_3\text{BO}_3$
	1.81	10.82 $\mu\text{M}$ $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
	0.22	0.765 $\mu\text{M}$ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
	0.08	0.320 $\mu\text{M}$ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
	0.016	0.066 $\mu\text{M}$ $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

应当说明的是 , 上述示出的营养液6的成分及含量仅为其中一个典型实施例 , 并不用以限定本发明的保护范围。

15 上述内容主要描述了本发明中气栽室的结构。需要注意的是 , 气栽室应定期维护 , 才能充分保证培植的成功率。具体包括 : 气栽室内的植株残叶和昆虫等要清除 , 并要把植株的根剪切至可维持一周时间位于营养液上方2 cm的位置 ; 每周要检查营养液的PH值是否需要调整 , 每两周更换一次新的营养液 ( PH6.5 ) ; 如发现被海藻污染 , 要对气栽室进行彻底清洗 , 可利用次氯酸 (  $\text{HClO}$  ) 进行清

洗。此外，再次填充营养液之前，先用去离子水进行冲洗。

图2是本发明中将AMF接种到所选定的寄主植物中的示意图。本发明中，AMF与寄主植物的共生关系是特定的，因此可选择以下几种寄主植物：甜玉米、苏丹草和红三叶草。之所以选择这三种座位寄主植物，是因为它们只需简单栽种，就可获得很快的生长速度，并且具有广泛的根系统。当然，本发明还可选择其他的植物作为寄主植物，上述示例并不用以限定本发明的保护范围。

接种是在一个圆形塑料袋中进行的，如图2所示，该圆形塑料袋的尺寸为：直径4cm，高22cm。在实际应用中，可通过热密封器将标准的塑料袋裁剪而成。

该塑料袋的3/4填充有蛭石8，加入的AMF接种菌10与蛭石8的表层混合在一起，产生了一个稀释后的接种菌均衡层。还有一部分蛭石位于上层，该层厚度为3 - 6mm，将前述选择的寄主植物的种子9轻轻播撒并覆盖在该上层蛭石的表面。塑料袋上的排水孔11，在实际应用中，可通过简易工具（例如圆珠笔）在底部打孔即可。

图3是本发明中培养AMF接种菌的方法流程图，具体过程如下：

在执行本发明的所有步骤之前，需要选择寄主植物。本发明中，AMF与寄主植物的共生关系是特定的，因此可选择以下几种寄主植物：甜玉米、苏丹草和红三叶草。之所以选择这三种座位寄主植物，是因为它们只需简单栽种，就可获得很快的生长速度，并且具有广泛的根系统。当然，本发明还可选择其他的植物作为寄主植物，上述示例并不用以限定本发明的保护范围。

在步骤S301中，在一个填充有蛭石的塑料袋中，使加入的AMF接种菌10与蛭石8的表层混合，构建一个稀释后的接种菌均衡层。

在步骤S302中，在上层蛭石8的表面播种寄主植物的种子9，在寄主植物生长过程中，接种菌的菌丝在寄主植物根部皮层的细胞间和细胞内生长，从而繁殖到寄主植物上。

在步骤S303中，30天后，将寄主植物移出并固定到气栽室中，其根保持在气栽室内。具体地，植株可用聚酯纤维包扎，并固定于盒盖2上的孔1中。

在步骤S304中，喷雾系统每隔一段时间（例如每10秒钟）向寄主植物的根喷洒一次气雾，进行培养，为期3个月。

在步骤S305中，将培养好的植株取出。可对该植株进行各种观测实验，例

如，将随机抽样的根样本保存在50%的酒精中，用“ 靛唑黑E” 染色以检查AMF的繁殖率，用解剖显微镜进行观察。当从气栽室对根进行采伐时，整个植株被移出，且用聚酯纤维将孔塞紧，多余的水分通过根排出，然后置于一个干净的吸水毛巾上。裁剪的根接种菌的制作是：利用一个已灭菌的剪刀，将根剪切为  
5 1cm的小段。除了裁剪的接种菌外，修剪的根接种菌也是接种菌的另外一种可行的形式，与裁剪的接种菌作为参照对比，其具有提高繁殖体密度的优点。修剪之后，通过丝网，用去离子水对泥浆进行过滤性的清洗。留存的片段，置于室温中干净的吸水毛巾上风干三天。然后，在执行其他试验前，将其放入干净的塑料袋，并存储于4摄氏度的黑暗环境中。至此，所有培养工序完成。

10 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已，并不用以限制本发明，凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

## 权 利 要 求 书

- 1、一种培养从枝菌根真菌的接种菌的装置，即气栽室，其特征在于，所述气栽室包括一个不透明的盒子及盒盖，所述盒盖具有至少一个用以固定寄主植物的孔，盒内安装有为寄主植物的根喷洒气雾的喷雾系统。
- 5 2、根据权利要求1所述的培养从枝菌根真菌的接种菌的装置，其特征在于，所述盒子用不透明材料制作而成，或者由透明材料制作的盒子与包装在外的不透明的塑料袋组合而成。
- 3、根据权利要求2所述的培养从枝菌根真菌的接种菌的装置，其特征在于，所述盒子的规格如下：尺寸为65\*45\*43cm，容量为60L。
- 10 4、根据权利要求1所述的培养从枝菌根真菌的接种菌的装置，其特征在于，所述盒盖用聚苯乙烯板或塑料板制作而成。
- 5、根据权利要求4所述的培养从枝菌根真菌的接种菌的装置，其特征在于，所述盒盖的厚度为8mm。
- 6、根据权利要求1所述的培养从枝菌根真菌的接种菌的装置，其特征在于，  
15 所述盒盖上具有多个孔，各孔之间以规则的栅格图形隔离。
- 7、根据权利要求1所述的培养从枝菌根真菌的接种菌的装置，其特征在于，所述喷雾系统包括离心泵、喷嘴和计时器；  
所述离心泵具有可调节的泵速控制器；  
所述喷嘴与离心泵相连，用于向寄主植物喷洒气雾；  
20 所述计时器与离心泵相连，用于控制喷洒气雾的时间间隔。
- 8、一种利用权利要求1所述装置培养从枝菌根真菌的接种菌的方法，其特征在于，所述方法包括以下步骤：  
A.将从枝菌根真菌接种到所选定的寄主植物中；  
B.将所述寄主植物固定到气栽室的盒盖上，其根保持在气栽室内，利用喷  
25 雾系统喷洒气雾进行培养。
- 9、根据权利要求8所述的培养从枝菌根真菌的接种菌的方法，其特征在于，所述步骤A中的接种包括：  
A1.在一个填充有蛭石的塑料袋中，使加入的丛枝菌根真菌的接种菌与蛭石的表层混合，产生一个稀释后的接种菌均衡层；  
30 A2.在上层蛭石的表面播种寄主植物的种子，当寄主植物的根部进入所述接

种菌均衡层时，接种菌繁殖到所述寄主植物上。

10、根据权利要求8或9所述的培养从枝菌根真菌的接种菌的方法，其特征在于，所述步骤B中利用喷雾系统喷洒气雾的步骤包括：喷雾系统每10秒钟向所述寄主植物的根喷洒一次气雾。



# 说明书附图

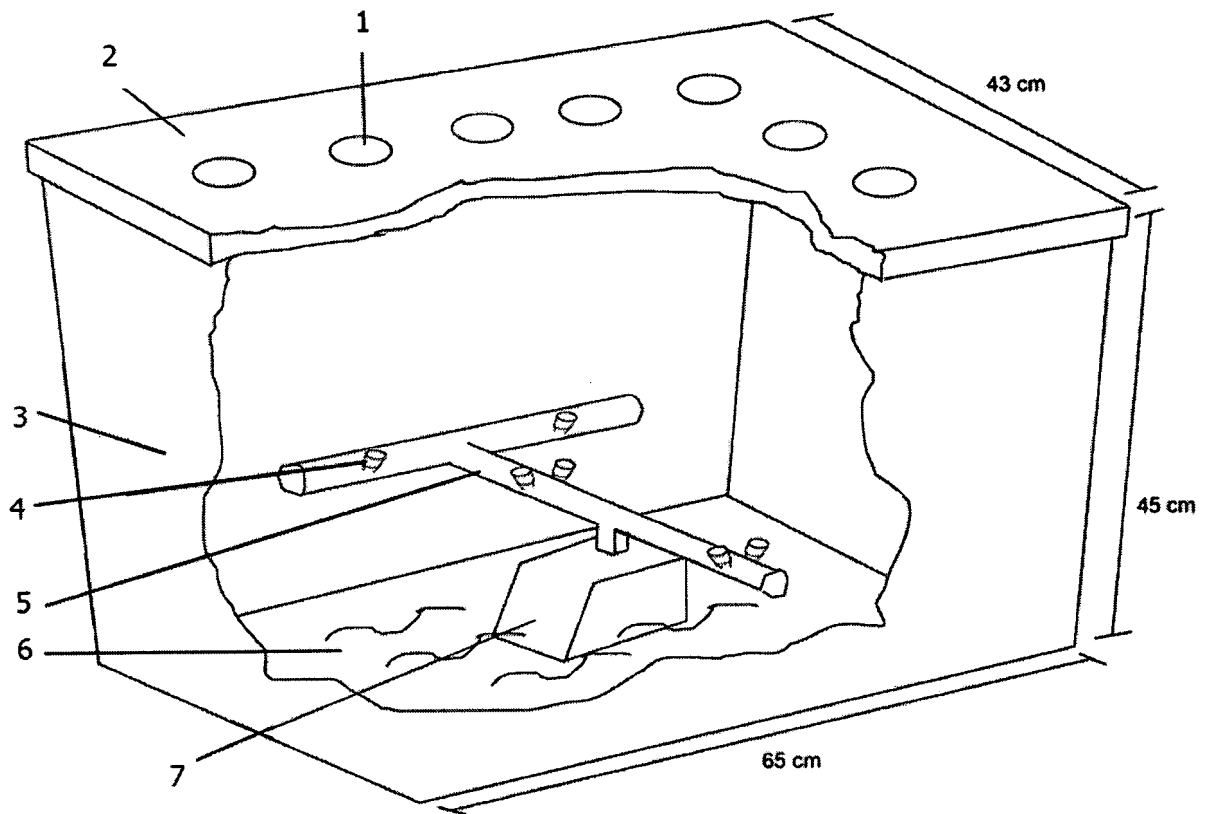


图 1

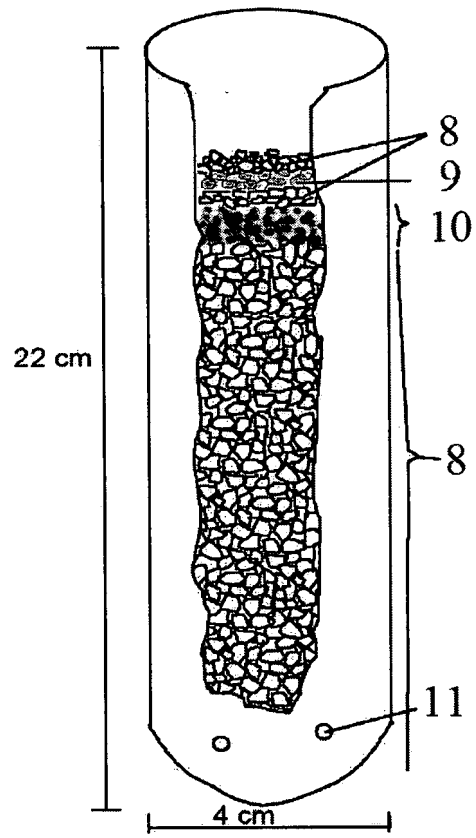


图 2

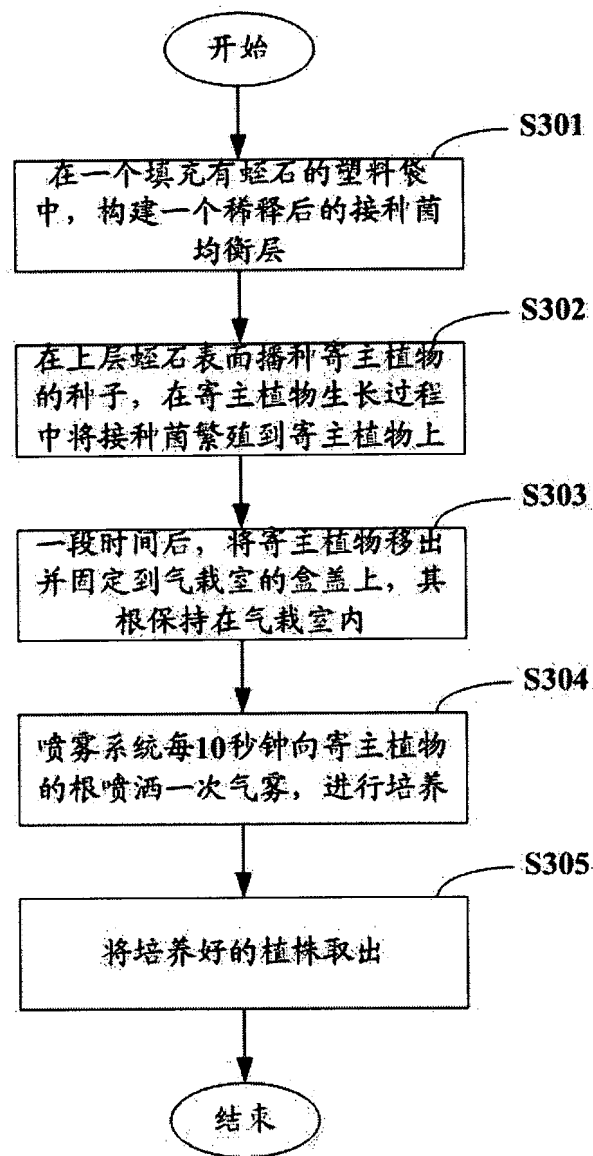


图 3