

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 (KH_2PO_4)、硝酸钾 (KNO_3)、硝酸钙 ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$)、二胺四乙酸铁钠 (NaFeEDTA)、氯化钠 (NaCl)、硫酸镁 (MgSO_4)。而微量元素则包括硼酸 (H_3BO_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 KH_2PO_4
常量营养素贮备液 2	101.11	1.0M 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 NaFeEDTA
常量营养素贮备液 5	5.84	0.1M NaCl
常量营养素贮备液 6	246.48	1.0M MgSO_4
微量元素	2.86	46.25 μM H_3BO_3
	1.81	10.82 μM $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
	0.22	0.765 μM $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
	0.08	0.320 μM $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
	0.016	0.066 μM $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

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 (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“ 羰唑黑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

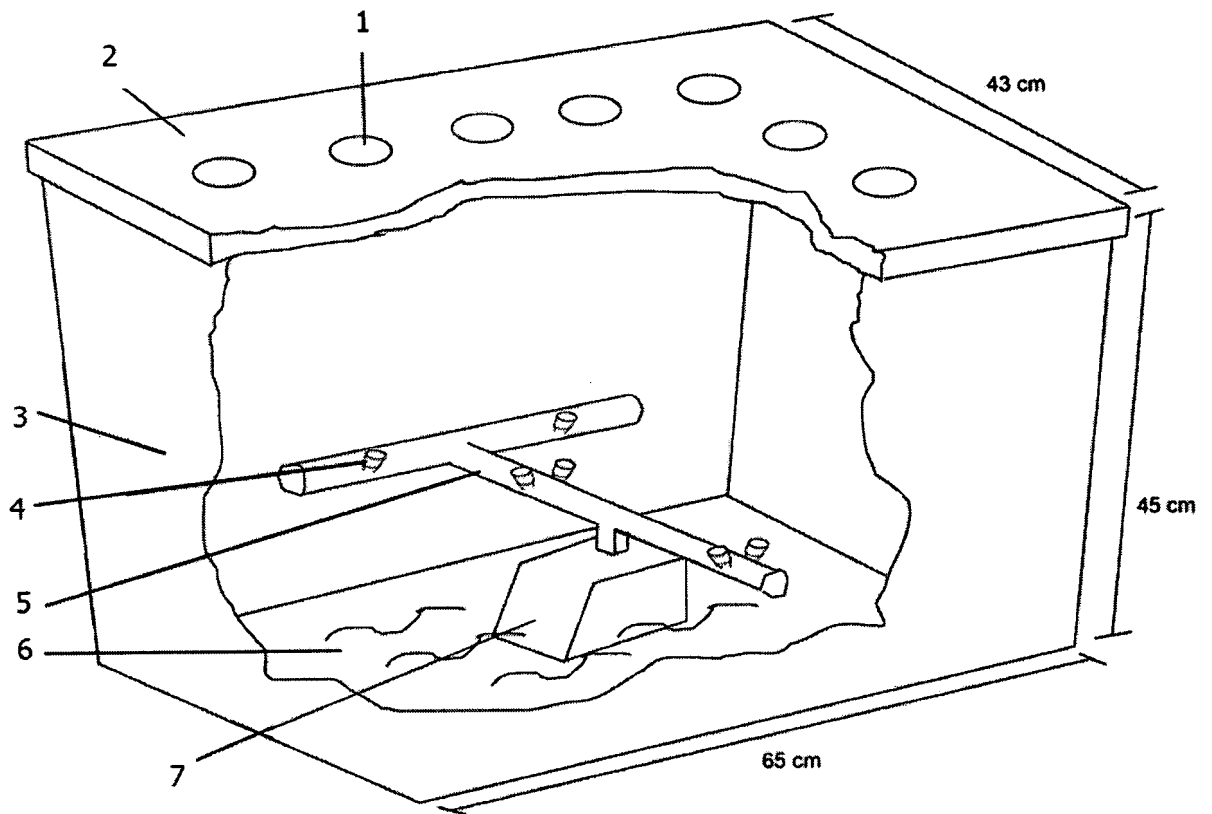


图 1

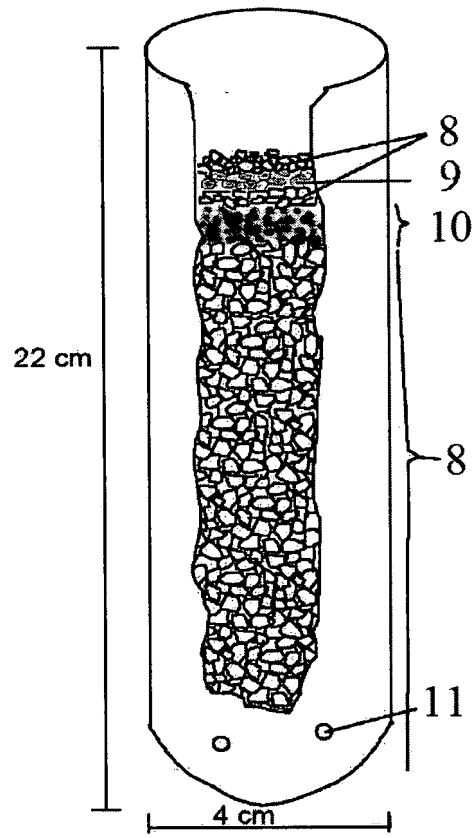


图 2

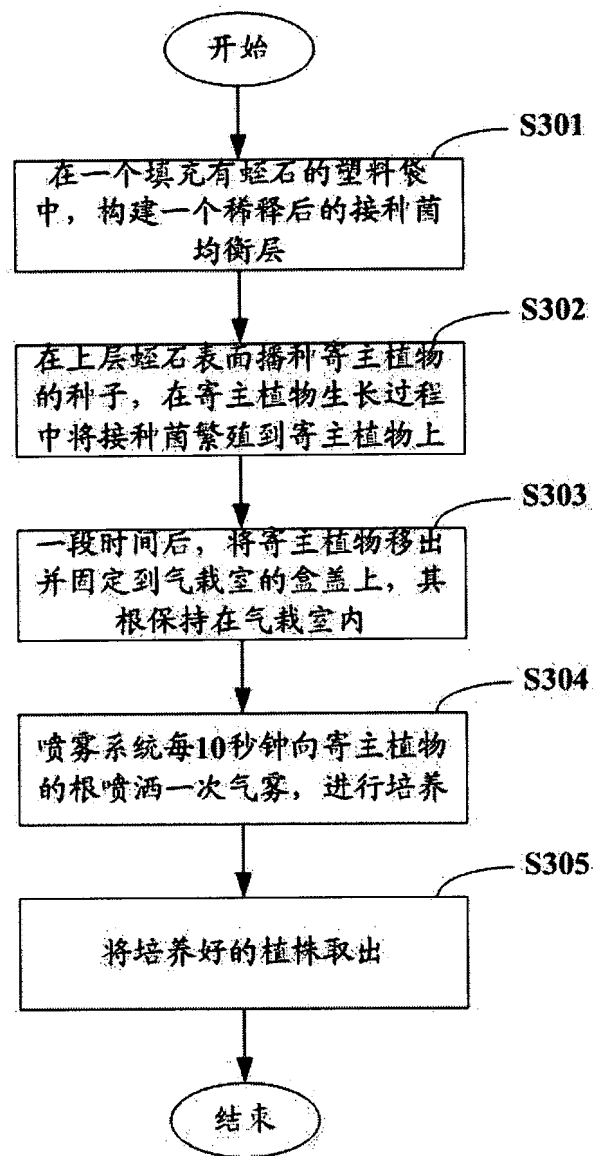


图 3