



闫更轩,杨洪一.菌根真菌在越橘毛根中的定殖特点研究[J].黑龙江农业科学,2020(5):88-90.

# 菌根真菌在越橘毛根中的定殖特点研究

闫更轩,杨洪一

(东北林业大学 生命科学学院,黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:**为进一步研究植物-菌根真菌共生体形成的特殊根系结构,本研究以菌根真菌感染 21 d 后的越橘毛根为试验材料,利用锥虫蓝染色对真菌感染特点进行观察。结果表明:在越橘毛根细胞内存在大量的菌根真菌菌丝团,说明菌根真菌已成功在越橘根系定殖。菌根真菌感染 21 d 后,其在越橘毛根中的感染率为 32%,属中度感染。

**关键词:**菌根真菌;越橘;锥虫蓝染色;感染率

在自然界中,许多微生物与植物可形成共生关系,其中较普遍的共生是丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)与植物共同形成的丛枝菌根<sup>[1]</sup>。大多数菌根共生关系中,植物为真菌提供来自于自身光合作用的糖类,而真菌为植物提供必需的矿物或水分;然而,在一些植物中,碳的流动方向发生了逆转,真菌会为植物提供碳源<sup>[2]</sup>。菌根共生对植物促进作用的大小可能取决于物种对生态系统间生物相互作用的反应、菌根类型之间的功能差异,以及影响植物-菌根真菌共生体形成的特殊根系结构<sup>[3]</sup>。

越橘是一类具有较高经济价值的被子植物,其叶可入药,其果因含有丰富的营养价值而为人所喜爱<sup>[4]</sup>。越橘属寡养植物,常规条件下生长速度较慢,一般需要与菌根真菌形成菌根共生体以增加吸收效率<sup>[5]</sup>。目前,越橘菌根的相关研究已逐渐开展,但较少有越橘菌根的形态学观察的相关研究报道。本研究以越橘菌根共生体为试验材料,选用锥虫蓝染色方法对越橘菌根形态进行观察,并分析了菌根真菌在越橘根系内的定殖情况。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试笃斯越橘采自于大兴安岭,经外植体消毒后进行脱毒组培培养,扩繁后于试验室保存。

锥虫蓝染色液:将 30 mL 乳酸、30 mL 丙三醇、40 mL 蒸馏水、0.22 g 锥虫蓝和 35 g 苯酚混合均匀;10% KOH:50 g KOH,蒸馏水定容至 500 mL;5% 乳酸:5 mL 乳酸、95 mL 无菌水混合均匀;乳酸甘油:50 mL 乳酸、50 mL 丙三醇混合均匀;

倒置荧光显微镜:日本 Nikon 公司 TE2000-S 型。

### 1.2 菌根真菌与组培植株的共培养

将草炭土与蛭石按照 3:1 的比例混合均匀,调整湿度后装入灭菌袋中,高压灭菌 121 ℃,50 min 后,将灭菌土分装至无菌 250 mL 锥形瓶中。待取用时,将组培苗根系埋入土壤中并轻微压实,将菌根真菌菌块埋在根系附近,用封口膜封紧瓶口,将三角瓶放入光照培养箱下,每日光照 16 h,28 ℃ 条件下培养。21 d 后取越橘根系进行形态学鉴定。

### 1.3 锥虫蓝染色

将越橘根系土壤洗净,剪成 0.5 cm 左右的小根。将剪好的根段放到 FAA 固定液中 24 h 后,用蒸馏水洗干净,再浸泡到 10% KOH 中,放在 90 ℃ 水浴锅中 60 min。脱色后取出,用蒸馏水清洗根样至无色,再浸泡至 5% 乳酸中 3~4 min。将酸化后根段放入锥虫蓝染液中,室温过夜或 90 ℃ 水浴 30 min,取出根段,放入乳酸甘油中浸泡,在载玻片上滴加一滴甘油,取出根段至载玻片上(3~4 个),盖玻片盖上后轻轻按压,挤出气泡,让根部舒展开,进行镜检。

### 1.4 菌根感染率计算

对镜检的植物菌根根系进行观察,总根段数

收稿日期:2020-03-08

第一作者:闫更轩(1996-),男,在读硕士,从事越橘与菌根真菌共生研究。E-mail: predawnyan@126.com。

通信作者:杨洪一(1978-),男,博士,教授,从事微生物学研究。E-mail: 18830701@qq.com。

计为  $M$ , 依照测微尺刻度计算每条根中内生菌丝长度占菌根总长度的百分比  $S$ , 则总侵染率  $P$  的计算公式为:

$$P = \frac{\sum S}{M} [6]$$

侵染率可根据其侵染强度分为:弱侵染(0~24%)、中度侵染(25%~75%)、重度侵染(76%~100%)3 个等级。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌根真菌回接

菌根真菌回接 21 d 后,可在土壤表面观察到菌丝生长,被侵染植株生长正常,且根部被菌根真

菌菌丝包裹渗入土壤表层。

### 2.2 锥虫蓝染色结果

取越橘根部经冲洗后进行锥虫蓝染色,镜检可观察到真菌侵染越橘根系结果。如图 1 所示,越橘根系细胞经透明处理后可较为明显地观察到菌丝分布,细胞排列整齐,无明显破损;菌根真菌的定殖点大多位于根系的表皮和皮层细胞,且大多以特殊的菌丝团结构分布于各个细胞内。

### 2.3 菌根侵染率计算

接种 21 d 后,取根进行锥虫蓝染色处理并观察,统计菌丝长度并计算其总侵染率。菌根真菌侵染 21 d 后,其在越橘毛根中的侵染率为 32%,属于中度侵染。

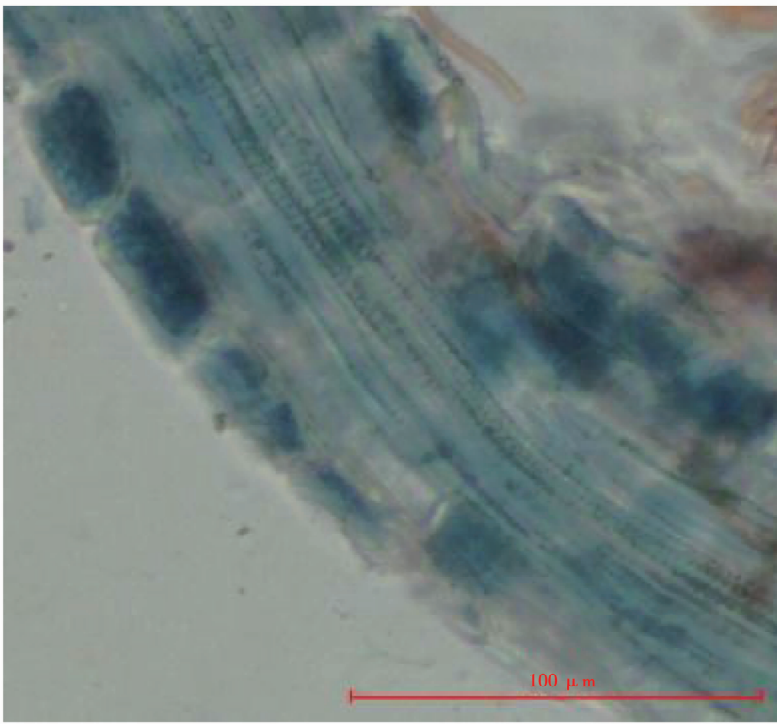


图 1 越橘菌根真菌定殖染色观察结果

Fig. 1 Observation results on colonization and staining of mycorrhizal fungi in *Vaccinium uliginosum*

## 3 结论与讨论

在自然界中,大多数植物在不同程度上依赖菌根真菌满足其部分营养需求。近年来,菌根共生体的形成机制及功能已逐渐成为研究热点,其中,越橘由于其丰富的营养水平、经济价值以及菌根的特殊性而成为研究菌根相关机制的重要材料。本文利用锥虫蓝染色的方法,分析了菌根中菌根真菌的侵入特点及形态结构,并测定真菌在越橘根系中的侵染率。结果表明,菌根真菌主要

侵染于根系成熟部位的表皮细胞,呈菌丝团状分布,且对幼生根系的侵染率较低。外部观察显示菌根真菌在菌根周围会形成菌丝结构以帮助宿主植物摄取矿物营养。

然而,尽管菌根真菌并非是寄主特异性,但不同种菌根真菌分离株对相同或不同物种宿主的影响均存在一定差异,同时,菌根真菌通过在菌根附近形成菌丝来扩大营养勘探区,但该区域的范围也受菌株或宿主物种的种类影响<sup>[7]</sup>。近年来研究

发现,多种菌根真菌的共同组合相比单一菌根真菌有更明显的促进植物生长的积极作用, Farmer 等和 Gogoi 等<sup>[8-10]</sup> 分别证明了菌根真菌多样性对于甘薯及辣椒养分吸收过程的重要性。此外,土壤中的其他微生物群也会对菌根真菌的活性产生抑制作用,从而影响菌根的功能<sup>[11]</sup>。此外,以独脚金内酯及其类似物芬酸甲酯为代表的代谢物已被认为是真菌与宿主间交流的重要介质<sup>[12]</sup>。这类代谢物不仅起到真菌侵入植物根系的媒介信号作用,同时也提高了植物的抗逆性,如 Ruiz-Lozano 等<sup>[13]</sup> 发现独脚金内酯增强了番茄和生菜对于干旱环境的抵抗力。对于上述越橘菌根形成过程的各种影响因素,应在今后研究中进一步加以分析。

#### 参考文献:

- [1] Pringle A, Bever J D, Gardes M, et al. Mycorrhizal symbioses and plant invasions[J]. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2009, 40: 699-715.
- [2] Jacquemyn H, Merckx V S F T. Mycorrhizal symbioses and the evolution of trophic modes in plants[J]. Journal of Ecology, 2019(7): 1567-1587.
- [3] Montesinos-Navarro A, Valiente-Banuet A, Verdú M. Mycorrhizal symbiosis increases the benefits of plant facilitative interactions[J]. Ecography, 2019, 42(3): 447-455.
- [4] 张玉萍. 越橘的保健作用及其在我国开发利用前景[J]. 山西农业科学, 2006(4): 22-25.
- [5] 马文汉, 徐德冰, 王雪松, 等. 越橘的矿质营养研究[J]. 农业与技术, 2016, 36(23): 16-20.
- [6] Biermann B, Linderman R G. Quantifying vesicular - ar-

buscular mycorrhizae: a proposed method towards standardization[J]. New Phytologist, 1981, 87(1): 63-67.

- [7] Munkvold L, Kjølner R, Vestberg M, et al. High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. New Phytologist, 2004, 164(2): 357-364.
- [8] Burni T, Hussain F, Sharief A M. Arbuscular mycorrhizal fungi(AMF) associated with the rhizosphere of *Mentha arvensis* L. and *M. longifolia* huds[J]. Pakistan Journal of Botany, 2011, 43(6): 3013-3019.
- [9] Farmer M J, Li X, Feng G, et al. Molecular monitoring of field-inoculated AMF to evaluate persistence in sweet potato crops in China[J]. Applied Soil Ecology, 2007, 35(3): 599-609.
- [10] Gogoi P, Singh R K. Differential effect of some arbuscular mycorrhizal fungi on growth of *Piper longum* L. (Piperaceae) [J]. Indian Journal of Science and Technology, 2011, 4(2): 119-125.
- [11] Svenningsson N B, Watts-Williams S J, Joner E J, et al. Suppression of the activity of arbuscular mycorrhizal fungi by the soil microbiota[J]. The ISME Journal, 2018, 12(5): 1296.
- [12] Yoneyama K, Xie X, Yoneyama K, et al. Regulation of biosynthesis, perception, and functions of strigolactones for promoting arbuscular mycorrhizal symbiosis and managing root parasitic weeds[J]. Pest Management Science, 2019, 75(9): 2353-2359.
- [13] Ruiz-Lozano J M, Aroca R, Zamarreño Á M, et al. Arbuscular mycorrhizal symbiosis induces strigolactone biosynthesis under drought and improves drought tolerance in lettuce and tomato[J]. Plant, Cell & Environment, 2016, 39(2): 441-452.

## Study on Colonization Characteristics of Mycorrhizal Fungi in Hairy Roots of *Vaccinium uliginosum*

YAN Geng-xuan, YANG Hong-yi

(Life and Science College, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

**Abstract:** In order to further study the special root structure of plant mycorrhizal fungi symbiont, in this study, 21 days after mycorrhizal fungi infecting the hairy roots of *Vaccinium uliginosum*, *Trypanosoma* blue staining was used to observe the characteristics of fungal infection. The results showed that there were a large number of mycorrhizal fungal hyphae in the hair root cells of *Vaccinium uliginosum*, which indicated that mycorrhizal fungi had successfully colonized in the root system of *Vaccinium uliginosum*. After 21 days, the infection rate of mycorrhizal fungi in *Vaccinium uliginosum* hairy roots was 32%, which was moderate.

**Keywords:** mycorrhizal fungi; *Vaccinium uliginosum*; trypan blue staining; infection rate