

四种外生菌根真菌产生植物激素的研究

王有智 黄亦存

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

摘要 在纯培养条件下, 利用 HPLC 法, 分别测定了四种外生菌根培养液和菌丝体中的五种植物激素含量。检测结果, 除没有脱落酸(ABA)外, 玉米素(Z)、玉米素核苷(ZR)、赤霉素(GA_3)、吲哚乙酸(IAA), 均有一定含量。培养液中激素含量远高于菌丝体中的含量, GA_3 在各种激素中含量最高。从培养液中的激素总量看, *Suillus* 属的两个种 *Suillus grevillei* 和 *Suillus bovinus* 高于另外两个种 *Rhizopogon luteolus* 和 *Pisolithus tinctorius*。以上结果有力地说明了外生菌根真菌可产生植物激素, 同时, 植物激素产生量的多少也可作为筛选优良外生菌根真菌的一个重要指标之一。

关键词 外生菌根真菌, 植物激素, 纯培养, HPLC

外生菌根是真菌同植物形成的一种互益的共生体系。在这一共生体系中互利互惠关系主要表现在: 植物的根为真菌提供有利的生长环境和碳水化合物; 外生菌根则扩大了植物根系的吸收面积, 促进了寄主植物对磷等矿质元素及水分的吸收; 菌根真菌可产生植物激素等生长调节物质刺激植物生长; 也可产生抗生素抑制植物根部致病菌的生长, 调节根部的微生态环境等^[1~4]。总之, 菌根的形成对寄主植物的有益作用是多方面的。就外生菌根真菌产生植物生长调节物质——植物激素而言, 不少学者甚至认为, 这种能力在菌根的多种有益作用中

发挥着主导作用^[6], 可作为生产实践中筛选优秀菌种的一个重要指标, 在这方面国内的有关报道还很少^[5~7]。本文通过对四种外生菌根真菌纯培养条件下菌丝体和培养液中所产生的玉米素(Zeatin)、玉米素核苷(Ribosylzeatin)、赤霉素(Gibberellin)、吲哚乙酸(Indole-acetic acid)、脱落酸(Abscisic acid)量的比较, 揭示外生菌根真菌产生各种植物激素的规律。

国家科委攀登计划项目 PD85-31-03-05 课题资助
1996-01-29 收稿

1 材料和方法

1.1 菌种

实验所用四株菌种均从组织分离获得, 如下:

名称	采集地	生境
<i>Suillus grevillei</i>	北京 东灵山	落叶松林
<i>Suillus bovinus</i>	北京 东灵山	油松林
<i>Rhizopogon luteolus</i>	安徽 合肥 大蜀山	火炬松林
<i>Pisolithus tinctorius</i>	安徽 宣州 金坝林场	湿地松林

1.2 菌体的培养

250 ml 三角瓶装入 100ml MMN 培养液 (麦芽浸膏 3.0g, 葡萄糖 10.0g, 磷酸氢二铵 0.25g, 磷酸二氢钾 0.5g, 硫酸镁 0.15g, 氯化钙 0.05g, 1% 三氯化铁水溶液 1.2ml, VB1 0.1mg, 蒸馏水 1000ml, pH5.5~5.7)。1 × 10⁵ Pa, 30min 灭菌后接入 MMN 平板长好的菌丝块 (用直径 8mm 的打孔器打取), 25 °C 静置培养。每种 6 个重复, 培养时间一个月。

1.3 植物激素的提取

菌丝体用无菌水清洗, 滤纸吸干, 于小研钵中加 5ml 80% 冰甲醇研磨 10min, 转至

100ml 锥形瓶中, 加 20ml 80% 冰甲醇, 摇匀, 冰室放置 40h (每 2h 摇动 5min), 过滤, 滤液减压浓缩到 10ml, 经 0.45μm 滤膜过滤, 清液待分析。每种三瓶重复处理, 所得清液混合, 用于上机测定, 其结果为菌丝体中的植物激素含量。每瓶菌丝体干重以另三个重复处理瓶的烘干恒重平均数计。

过滤掉菌丝体的培养液连同冲洗菌丝体的流出液一起减压浓缩到 10ml, 得分析液, 测定结果为培养液中的植物激素含量。

1.4 植物激素的测定方法

高压液相色谱仪: Waters 244 HPLC

柱: Resolve PaR C18 (0.4 × 15cm)

流动相: 20% CH₃CN 20%CH₃OH 60%

H₂O 用 H₃PO₄ 调 pH3.0

流速: 0.7 ml / min

检测器: UV 254nm × 0.1AuFg

所得到的标准样品及待测样品的分离色谱, 以保留时间定性, 峰面积定量, 计算出各种激素含量^[8]。

2 结果与讨论

在实验给定的条件下, 经 HPLC 法测定, 得到以下结果, 如表 1:

表 1 四种外生菌根真菌植物激素的产生量

菌株	菌丝体 干重(g)	激素含量 - 培养液中 L (μg / 100ml) 菌丝体中 S (μg / 每瓶菌丝体干重 g)										总量	
		Z		ZR		GA ₃		IAA		ABA		ΣL	ΣS
		L	S	L	S	L	S	L	S	L	S		
<i>S. grevillei</i>	0.115	22	0.54	24	0.49	110	2.74	44	0.69	0	0	200	4.46
<i>S. bovinus</i>	0.180	20	0.74	24	0.51	88	2.75	88	0.34	0	0	220	4.34
<i>Rh. luteolus</i>	0.275	23	1.10	18	0.80	110	2.75	16	0.35	0	0	167	5
<i>P. tinctorius</i>	0.315	18	2.73	18	0.90	55	2.67	9	0.28	0	0	100	6.58

从结果可以看出, 在所测试的五种植物激素中, 除 ABA 在菌丝体和培养液中没有检测到以外, 其他四种均有一定的含量。而且这四种植物激素 (Z、ZR 属于细胞激动素) 中, IAA 的基本功能是促进伸长生长; Z、ZR 促进细胞分裂、分化; GA₃ 则是打破休眠、加速生长^[9]。总之, 它们主要起促进生长的作用, 而主要起

抑制生长、促进衰老作用的 ABA 却没有检测出来, 这一结果很好地说明了菌根真菌可以产生促进生长作用的植物激素这一结论。

其次, 四种菌根真菌分泌在培养液中的激素含量远高于其菌丝体中的含量, 这表明, 菌根真菌将产生的激素主要释放于细胞外, 通过菌根这一共生体系, 这些激素就可进入植物组

织中发挥作用。而植物本身产生的激素却是细胞内的^[1,4,5]。

再之,在几种激素中,每一种菌根真菌的 GA3 含量都为最高,说明 GA3 这一在植物体内含量极少的激素(跟其他几类比较而言)^[9],可从其共生伙伴——菌根真菌所产生的作为补充,以促进植物生长发育的需要。

由于菌根真菌所产生的植物激素主要释放于培养液中,菌丝体中的含量很少,而且在用单位生物量中含植物激素的量作为衡量一个菌根真菌产生植物激素能力的大小没有多大的意义。实际上工业发酵生产赤霉素也只提取发酵液中的赤霉素,菌丝体中含量极微而不计^[10]。所以应当以单位培养液中植物激素产生量作为衡量标准。

从每一种菌根真菌培养液中的几种植物激素总量(表1)可以看出, *Suillus* 属的两个种产生激素的量高于 *Rh. luteotus* 和 *P. tinctorius*, *P. tinctorius* 中的含量最少,但其生物量却最大。就产生激素的效率来说,前者优于后者。

基、温度、时间等条件下得出的。事实上,在以上结果及结论是在本实验所设计的培养不同实验条件下得到的结果可能会有差异,但这丝毫不影响在限定条件下实验结果的意义。

参考文献

- [1] Slankis V. Hormonal relationships in mycorrhizal development In: Ectomycorrhizae. Academic Press. New York. 1973. 231 ~ 298.
- [2] Miller C O. Science. 1967. 157:1055.
- [3] Ng P P, Cole A L J. New Phytol., 1982. 91:57 ~ 62.
- [4] Strzelczyk E, Pokojka-Burdziej A. Plant Soil. 1984. 81:185 ~ 194.
- [5] 郭秀珍, 毕国吕. 林木菌根及应用技术, 北京: 中国林业出版社, 1989.
- [6] 阎伟, Tacon F. LE. Lapeyrie F. 国际菌根研讨会论文集, 广东开平, No.18. 1994.
- [7] 赵志鹏, 王学聘, 郭秀珍. 微生物学报, 1992. 32(3): 227 ~ 232.
- [8] Rouillon K, Gay G, Bernillon J et al.: Can J Bot., 1986. 64:1893 ~ 1897.
- [9] 增田芳雄, 胜见允行, 今关英雄. 植物激素, 北京: 科学出版社, 1978.
- [10] 木下视郎著, 徐亲民, 檀耀辉译. 发酵工业, 北京: 轻工业出版社, 1985.

PLANT HORMONES PRODUCTION BY 4 SPECIES ECTOMYCORRHIZAL FUNGI IN PURE CULTURE

Wang Youzhi Huang Yicun

(Institute of Microbiology, Academia Sinica Beijing 100080)

Abstract Plant hormones produced by 4 species ectomycorrhizal fungi were detected by High-Pressure Liquid Chromatography (HPLC) in both the mycelia and the culture solution. With the exception of Absciscic acid (ABA), Zeatin (Z), Ribosyl zeatin (ZR), Gibberellin (GA3) and Indole-acetic acid (IAA) were detected out. The hormones in the culture solution are of far more amount than that in the mycelia. Of all the hormones, GA3 was the most. Regarding the total hormones in the culture solution, the two species of *Suillus* have advantages.

Key words Ectomycorrhizal fungi, Plant hormone, Pure culture, HPLC