

# 温度、pH 和后熟处理对缩球囊霉孢子萌发的影响\*

赵 之 伟

(云南大学生物学系 昆明 650091)

**摘要:** 研究了温度、pH 和后熟处理对缩球囊霉(*Glomus constrictum* Trappe)孢子萌发的影响,结果发现从云南热带植物河口观音座莲(*Angiopteris hokouensis* Ching)根际土壤中采集的缩球囊霉孢子萌发的最适温度在 25℃~30℃之间,最适 pH 在 5~6 之间,后熟处理明显提高缩球囊霉孢子的萌发率;同时还观察到缩球囊霉孢子萌发时只产生一根芽管;缩球囊霉孢子的萌发率较其他一些 VA 菌根真菌孢子的萌发率低,不同季节采集到的孢子其萌发率有明显的差异。

**关键词:** 温度, pH, 后熟处理, 缩球囊霉孢子, 萌发

中图分类号: Q938.11 文献标识码: A 文章编号: 0253-2654(1999)-06-0397-04

## THE INFLUENCE OF TEMPERATURE, pH AND AGING STORAGE ON THE GERMINATION OF *GLOMUS CONSTRICTUM* SPORES

ZHAO Zhiwei

(Department of Biology, Yunnan University, Kunming 650091)

**Abstract:** The influence of temperature, pH and aging storage on the germination of *Glomus constrictum* spores collected from the rhizosphere soil of Yunnan tropical plant *Angiopteris hokouensis* Ching were studied. It was found that the optimum temperature for the spores to germinate was 25℃~30℃, and the optimum pH was 5~6. Aging stored at 4℃ for two months could obviously increase the germination of *Glomus constrictum* spores. The spore of *Glomus constrictum* has just one germ tube when it germinated, and the germination rate was relatively lower than other arbuscular mycorrhizal fungi spores. The germination rates differed significantly in *Glomus constrictum* spores collected in different seasons.

**Key words:** Temperature, pH, Aging storage, *Glomus constrictum* spores, Germination

VA 菌根真菌 (*Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi*, 即泡囊丛枝真菌, 简称 VAMF; 或称丛枝菌根真菌 *Arbuscular Mycorrhizal Fungi*, 简称为 AMF) 目前尚不能在实验室中进行常规的纯培养, 严重地阻碍着 AMF 的基础和应用研究的深入。研究 AMF 孢子的萌发条件无论是对从基础理论上探索 AMF 的纯培养技术, 还是生产实践中用 AMF 的孢子接种农作物都是十分有意义的, 从基础

理论上讲, 孢子的萌发条件是对 AMF 进行纯培养需要解决的首要问题; 从应用上讲, 虽然 AMF 的孢子、菌丝和受感染植物的含菌根组织均可作为接种物, 但菌丝和含菌根组织的存活力却远远不如孢子, 作为接种物的孢子, 其萌发

\* 云南省自然科学基金 (No.97C009M); 云南省中青年学术和技术带头人培养经费资助项目

收稿日期: 1998-09-24, 修回日期: 1998-12-08

情况也是决定接种感染宿主植物能否成功的关键。

缩球囊霉 (*Glomus constrictum* Trappe) 被认为是一个喜湿热生态条件的种<sup>[1]</sup>, 而在我国, 该种真菌是一个广泛分布的种<sup>[2,3]</sup>, 在云南热带、亚热带蕨类植物的根际土壤中, 该种真菌为最常见种<sup>[4]</sup>。缩球囊霉具有孢子较大, 连孢菌丝在与孢子连接处通常缢缩, 随后又膨大, 孢壁一层, 孢子颜色较深等特征, 十分容易识别, 在研究 AMF 孢子种群组成以及在根际土壤中的季相变化时 (赵之伟, 云南植物研究, 21 卷, 待刊), 我们得到了一定数量的缩球囊霉的孢子, 并研究了温度、pH 和后熟处理对孢子萌发的影响, 本文报道这一研究结果。

### 1 材料与方法

#### 1.1 缩球囊霉孢子的来源

分别于 1997 年 5、7、9 月的 10 号采取从野外移栽到温室中盆栽的河口观音座莲 (*Angiopteris hokouensis* Ching) 的根际土约 0.5Kg, 其中 9 月份采集 4 个土壤样; 用湿筛法<sup>[5]</sup> 从中筛取缩球囊霉的孢子。

#### 1.2 温度对缩球囊霉孢子萌发的影响

5 月份采样分离到的孢子用接种针挑取接种于 1% 的水琼脂 (pH6.0) 平皿上, 带连孢菌丝的孢子, 将连孢菌丝从缢缩处弄断 (以下的接种处理与此相同), 每皿接种 50 个孢子, 分别于 20℃、25℃、30℃、37℃ 培养箱中培养, 每种处理 2 个平皿; 分别于 7、12、18、27d 后于体视显微镜和光学显微镜下观察记录孢子的萌发情况, 并最后统计各种处理条件下孢子的萌发率。

#### 1.3 pH 对缩球囊霉孢子萌发的影响

7 月份分离到的孢子分别接种于 pH 为 4.0、5.0、6.0 和 7.0 的 1% 的水琼脂平皿上, 每皿 50 个孢子, 其中, pH 为 4.0 和 5.0 的平皿不凝固, 试

验中的实际做法是在培养皿中放入 3 层滤纸, 灭菌后再将灭好菌的水琼脂用无菌吸管移到培养皿中, 并在将来的培养过程中适当补充水琼脂使滤纸保持湿润, 每种处理 2 个平皿, 于 25℃ 下培养, 分别于 7、12、18、27d 后观察记录孢子的萌发情况, 并统计孢子的萌发率。

#### 1.4 后熟处理对缩球囊霉孢子萌发的影响

9 月份采集的 4 个土壤样, 一个直接从中分离孢子, 并将分离到的孢子接种于 1% 的水琼脂平皿上 (pH 为 6.0), 25℃ 下培养, 每个平皿 50 个孢子, 共两个平皿, 分别于 7、12、18、27d 后观察记录孢子的萌发情况和萌发率; 另外 3 个土壤样则于 4℃ 冰箱中分别放置 2、4、6 个月后再进行上述处理。

### 2 结果

缩球囊霉孢子萌发时, 萌发管大多数从连孢菌丝处长出 (为区别芽管和连孢菌丝, 最好在接种时将连孢菌丝除去), 少数孢子从侧面或对应于连点的另一端长出芽管, 一个孢子通常只萌发出一根芽管, 芽管长度小于 180μm, 芽管直径 4~20μm, 薄壁, 近透明; 少数芽管形成一次甚至二次分枝, 但达到一定长度后, 芽管就停止伸长。

不同月份采集到的缩球囊霉的孢子, 在 pH 为 6.0, 1% 的水琼脂上, 25℃ 下培养 27d 后, 孢子的萌发率明显不同, 见表 1。

表1 不同月份采集的缩球囊霉孢子的萌发情况

采集时间(月份)	5	7	9
孢子萌发率(%)	7.9	10.0	14.3

5、7、9、3 个月采集的孢子分别在不同温度、pH 和后熟处理条件下进行萌发试验, 3 组试验结果见表 2。

表2 温度、pH 和后熟处理对缩球囊霉孢子萌发的影响

	温度(℃)				pH				后熟处理(月)			
	20	25	30	37	4.0	5.0	6.0	7.0	0	2	4	6
孢子萌发率(%)	4.8	7.9	7.0	5.0	4.0	10.4	10.0	6.3	14.3	25.0	22.7	16.3

从表2可以看出,在20℃至37℃间,缩球囊霉的孢子都能萌发,但在25℃~30℃间萌发率较高,过低或过高温度均不利于孢子萌发。pH在4~7之间孢子都能萌发,最适于孢子萌发的pH偏酸,在5~6之间。后熟处理明显提高缩球囊孢子的萌发率,4℃下贮藏2个月使孢子的萌发率从14.3%提高到25%,延长后熟处理时间,孢子萌发率又逐渐下降。

### 3 讨论

目前,要从孢子形态上鉴别AMF孢子的生理状况是十分困难的,本文将个体较大,颜色较深,新鲜筛出时表面具有一定光泽的孢子认为是缩球囊霉具有生理活性的孢子用于试验研究;即使是这样,由于缩球囊霉的孢子是单生或少数丛生于宿主植物的根际土壤中,要得到大量的上述孢子也不容易,因而研究中每种处理的孢子数量并不大,但通过重复试验,研究结果已具有一定的统计意义。从整个试验结果看,从云南热带植物河口观音座莲(*Angiopteris hokouensis* Ching)根际土壤中分离到的缩球囊霉孢子的萌发率总体上较低,通过后熟处理,最高萌发率也只有25%,而其他一些AMF孢子的萌发率则大多较高,如珠状巨孢囊霉(*Gigaspora margarita* Becker & Hall)的孢子在水琼脂上的萌发率达52%<sup>[6]</sup>,地表球囊霉(*Glomus epigaeus* Daniels & Trappe)孢子萌发率为63%~80%<sup>[7]</sup>,摩西球囊霉(*Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd. Gerd. & Trappe)的孢子萌发率达70%以上<sup>[8]</sup>。

在相同气候条件下的同种宿主植物根际土壤中,缩球囊霉在不同时间季节产生的孢子萌发率具有一定的差异,在本研究中,5月份采集的孢子在pH为6.0,1%的水琼脂培养基,25℃的试验条件下,萌发率只有7.9%,在相同的萌发试验条件下,7月份采集的孢子萌发率为10.0%,而9月份采集的孢子萌发率达

14.3%(见表1),说明不同月份根际土壤中的孢子其成熟度不一样。

关于温度和pH对孢子萌发的影响,一般认为孢子的最适萌发温度与AMF的生态分布有关,通常是分布于南方的种,孢子萌发需要较高的温度,而北方的种则孢子萌发温度较低<sup>[8]</sup>;孢子萌发的pH则与分离到孢子的土壤pH相接近<sup>[9]</sup>(本研究中,所采土样的pH为6.8)。对于分布在云南热带地区的缩球囊霉而言,孢子萌发的温度范围较宽,20℃至37℃下均能萌发,最适萌发温度在25℃~30℃间;孢子萌发的最适pH偏酸,在5~6之间,但范围也较宽,pH4~7都能萌发(见表2),这进一步说明缩球囊霉是一个生态分布广、适应性强的种。

从表2中后熟处理试验可以看出,分布于云南热区的缩球囊霉的孢子明显存在着后熟过程(或称熟化作用),低温处理(约2个月)可以促进这种孢子的后熟过程,从而提高孢子的成熟程度,增加孢子的萌发率。但是,低温处理却不能提高极大巨孢囊霉(*Gigaspora gigantea* (Nicol. & Gerd. Gerd. & Trappe)孢子的萌发率<sup>[10]</sup>,说明并不是所有AMF的孢子都有这种后熟过程。

### 参 考 文 献

- [1] Trappe J M. Mycotaxon, 1977, 6(2): 359~366.
- [2] 张美庆, 王幼珊. 真菌学报, 1991, 10(1): 13~21.
- [3] 唐明, 陈辉. 西北林学院学报, 1996, 11(1): 14~18.
- [4] 赵之作. 云南植物研究, 1998, 20(2): 183~192.
- [5] 程桂芬. 微生物学通报, 1986, 13(4): 169~171.
- [6] Siqueira J O, Hubbell D H, Schenck N C. Mycologia, 1982, 76(4): 925~959.
- [7] Danielles B A, Trappe J M. Mycologia, 1980, 72(2): 457~471.
- [8] Schenck N C, Graham S O, Green N E. Mycologia, 1975, 67(6): 1189~1192.
- [9] Green N E, Graham S O, Schenck N C. Mycologia, 1976, 68(2): 929~934.
- [10] Koske R E. Mycologia, 1981, 73(1): 288~300.