

## AM 真菌孢子保藏条件的研究—以异形根孢囊霉为例

黎 雪, 胡文涛, 况宇瑄, 唐 明\*

(岭南现代农业科学与技术广东省实验室/华南农业大学 林学与风景园林学院, 广东 广州 510640)

**摘 要:**为探究丛枝菌根(arbuscular mycorrhiza, AM)真菌纯孢子短期、中期保藏的最佳条件,将异形根孢囊霉(*Rhizophagus irregularis*, Ri)纯孢子保藏于30%甘油、30%甘油+植物组培抗菌剂(plant preservation mixture, PPM)、纯水、纯水+PPM 4种不同介质当中,于4℃和-20℃条件下保藏2个月和5个月后,将孢子液接种宿主植物根系,测定不同保藏条件对Ri孢子侵染宿主能力的影响。结果表明,1)保藏5个月、4℃纯水介质中大量休眠孢子打破休眠,显著提高Ri孢子液活性,与初始相比提高5.08%~11.07%,其他条件下Ri孢子活性随着保藏时间的增加而降低。2)保藏2个月后,其活性在甘油和纯水2种介质以及4℃和-20℃2种温度中无显著差异。Ri孢子保藏5个月后,其在纯水中保藏活性高于甘油,在4℃下保藏活性高于-20℃。3)PPM的添加在2个月内能够提高Ri孢子在纯水和甘油中的活性;在2~5个月能够提高Ri孢子在甘油中保藏的活性,而降低在纯水中保藏的活性。因此,短期保藏Ri孢子时,建议选择纯水+PPM于4℃保藏;中期保藏Ri孢子时,建议选择纯水于4℃保藏。研究结果为AM真菌纯孢子短期中期保藏提供一定借鉴。

**关键词:**丛枝菌根真菌;保藏时间;保藏介质;保藏温度;侵染能力

**中图分类号:**S714.3

**文献标志码:**A

**文章编号:**1001-7461(2023)05-0162-08

### Preservation Conditions of AM Fungal Spores: A Case Study of *Rhizophagus irregularis*

LI Xue, HU Wen-tao, KUANG Yu-xuan, TANG Ming\*

(College of Forestry and Landscape Architecture, South China Agricultural University, Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture, Guangzhou 510640, Guangdong, China)

**Abstract:** To investigate the optimal conditions for short-term and medium-term preservation of AM fungal pure spores, this study preserved pure spores of *Rhizophagus irregularis* (Ri) in four different media: 30% glycerol; 30% glycerol+plant preservation mixture (PPM); pure water; and pure water+PPM with the temperature of 4℃ and -20℃. After 2 and 5 months of storage, the preserved spores were inoculated on host plant root systems to determine the effect of different preservation conditions on the ability of Ri spores to infect the host root systems. The results showed that 1) a large number of dormant spores in pure water medium broke dormancy at 4℃ and this preservation condition significantly increased the activity of Ri spores after 5 months of storage, which was 5.08% to 11.07% higher than the initial one. Under other conditions, the activity of Ri spores decreased with the increase of storage time. 2) After 2 months of storage, there was no significant difference in Ri spore activity between two preservation media (glycerol and pure water) and two preservation temperature (4℃ and -20℃). While after 5 months, the activity of Ri spores in pure water was higher than in glycerol; the activity of Ri spores stored at 4℃ was higher than that stored at -20℃. 3) PPM addition to pure water and glycerol could improve the activity of Ri spores

收稿日期:2022-07-04 修回日期:2022-08-31

基金项目:国家自然科学基金(32001289);岭南现代农业科学与技术广东省实验室科研项目(NZ2021025)。

第一作者:黎 雪。研究方向:森林培育学。E-mail:lixuea2020@163.com

\*通信作者:唐 明,教授,博士生导师。研究方向:森林微生物学。E-mail:tangmingyl@163.com

within 2 months; PPM addition to glycerol could improve the activity of Ri spores within 2—5 months, while reduced the activity of Ri spores in pure water. Therefore, for short-term preservation of Ri spores, pure water+PPM at 4 °C is a better choice; for medium-term conservation of Ri spores, it is recommended to choose pure water at 4 °C. This study provides some references for the short- and medium-term preservation of AM fungi pure spores.

**Key words:** arbuscular mycorrhizal fungus; preservation temperature; preservation medium; preservation time; colonization capacity

丛枝菌根(arbuscular mycorrhiza, AM)真菌能够与72%以上的维管植物共生,形成丛枝菌根<sup>[1]</sup>,包括大多数林木<sup>[2-3]</sup>。菌根的形成能够促进林木生长,提高光合能力<sup>[4]</sup>,增强植物对干旱<sup>[5]</sup>、盐碱<sup>[6]</sup>以及重金属的耐受性<sup>[7]</sup>。基于AM真菌与植物生态系统的良好互动潜力,作为生物肥料可应用于土壤改良和生态系统恢复,其菌种新型保藏技术的开发对于AM真菌应用于发展绿色农业具有一定意义<sup>[8]</sup>。新鲜的AM真菌孢子中存在大量的休眠孢子<sup>[9]</sup>,孢子的休眠时间可能因营养、生物和环境因素的不同持续数周甚至数月<sup>[10]</sup>。大多数AM真菌孢子都有后熟过程<sup>[11]</sup>,低温处理能促进后熟过程,提高孢子成熟程度,从而提高孢子的萌发率<sup>[12]</sup>。

传统的AM真菌菌种保藏方法有活体寄主体内繁殖保藏、根器官体外培养保藏2种<sup>[13]</sup>。体外保藏是将混有AM真菌孢子的土壤干燥后于-60~-70 °C冷冻保存,3个月后AM真菌孢子发芽率与初始几乎无变化<sup>[14]</sup>,而将含有AM真菌繁殖体的土壤冷冻干燥后储藏8 a,其存活率从90%~100%下降到0%~30%<sup>[15]</sup>。张淑彬等<sup>[16]</sup>将摩西斗管囊霉(*Funnelformis mosseae*)的菌种培养物(含孢子的河沙沸石混合物)装入离心管中,于18~20、4、-20、-80 °C 4种温度下保藏,发现1~2 a内孢子活力下降至原来的20%以下;超过2 a孢子生理状态急剧降低、失去侵染能力。

AM真菌保藏方法大多为菌种混合物的保藏,鲜有关于AM真菌纯孢子保藏试验的探究。为探寻更简单有效、操作性强、花费更少的高品质AM真菌菌剂保藏方法,本研究在4 °C和-20 °C温度下采用纯水和甘油作为保藏介质,添加植物组培抗菌剂(plant preservation mixture, PPM),测定保藏2个月和5个月后的孢子侵染活性,从而确定Ri纯孢子保藏的最佳条件,为AM真菌纯孢子的短期、中期保藏提供一定参考依据,对AM真菌研究和应用的菌种纯孢子的储存具有实际意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌种

AM真菌异形根孢囊霉(*Rhizophagus irregu-*

*laris*, Ri, DAOM197198)购于北京市农林科学研究院植物营养研究所,经玉米(*Zea mays*)扩繁后,采用湿筛倾析法分离得到AM真菌孢子<sup>[17]</sup>。孢子过0.45 μm滤布去除杂质后,于无菌水中保存,得到初始新鲜孢子液。

### 1.2 培养基质

河沙(粒径<1 mm)和蛭石(粒径<3 mm)按1:1体积混合,高压蒸汽(121 °C、0.1 MPa)灭菌2 h,冷却、备用。

### 1.3 供试植物

三叶草(*Trifolium repens*)和玉米种子经1.5%次氯酸钠消毒15 min,无菌水冲洗3次后,浸泡催芽并播种到培养基质中。每天浇水保持湿润,1周左右选择长势一致的玉米和三叶草分别移栽到装有2 kg培养基质的塑料盆中。盆大小为10 cm×10 cm×8 cm,玉米每盆种植1株,三叶草每盆种植3~5株。

### 1.4 试验设计

共设置4个因素:1)保藏时间(2个月,5个月);2)保藏介质(甘油,纯水);3)保藏温度(4 °C, -20 °C);4)保藏介质中添加或不添加植物组培抗菌剂(PPM)。每个处理5个重复。甘油、纯水于灭菌锅中121 °C、0.1 MPa灭菌15 min,PPM过滤灭菌。初始孢子液(0.5 mL,约有150个孢子)和保藏介质(1.5 mL)加入2 mL无菌离心管中混匀后置于4 °C和-20 °C保藏。每种条件下保藏10管,共80管。

传统的甘油保藏法保藏菌种在-70 °C可以保藏3~5 a,在-20 °C保藏时间更短,约1 a。因此本研究以1 a作为保藏的最终期限,2个月为短期,5个月为中期,12个月为长期。

### 1.5 孢子侵染活性测定

首先,将0.5 mL初始孢子悬浮液接种到玉米和三叶草的根际,各接种5盆(作为原始孢子侵染活性的参照);然后,2个月和5个月后将不同保藏条件下的孢子液接种到玉米和三叶草根际;45 d后收获植物根系,采用<sup>[18]</sup>改进的台盼蓝染色法染色,使用网格线交叉法<sup>[19]</sup>测定根系侵染率,采用Hu等<sup>[20]</sup>开发的VBA-AMF软件统计原始数据。玉米和三叶草培育

期间,每周浇 2 次原浓度 50% Hoagland 低 P (30  $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 溶液(50 mL  $\cdot$  盆 $^{-1}$ ),培养温度 25  $^{\circ}\text{C}$ ,湿度 60%~85%,白炽灯光照 2 000 lx,光周期为 16 h。

## 1.6 数据分析

使用 Excel 2019 数据统计分析软件对原始数据进行整理。使用 SPSS 22.0(Armonk,USA)进行数据的方差分析,所有数据采用 HSD 法在显著水平为 5%条件下进行比较,当  $P < 0.05$  时,差异显著。采用 GraphPad Prism9.0 制图(GraphPad,USA)。

## 2 结果与分析

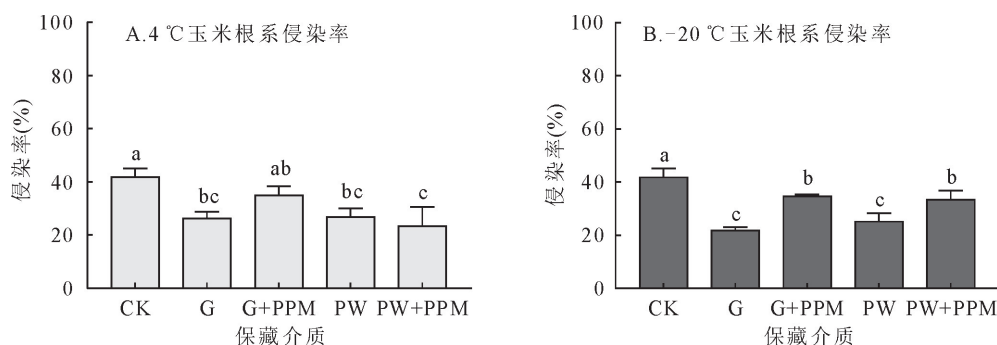
### 2.1 保藏条件对 Ri 孢子侵染玉米的影响

2.1.1 短期保藏 Ri 孢子对侵染玉米的影响 保藏温度相同时,Ri 孢子在甘油和纯水中的活性无显著差异。保藏介质相同时,Ri 孢子在 4  $^{\circ}\text{C}$  和 -20  $^{\circ}\text{C}$  下活性无显著差异。保藏温度为 4  $^{\circ}\text{C}$  时,Ri 孢子在甘油和纯水介质保藏 2 个月对玉米根系侵染率分别为 26.33%和 26.91%(图 1A);保藏温度为 -20  $^{\circ}\text{C}$  时,

Ri 孢子在甘油和纯水介质保藏 2 个月对玉米根系侵染率分别为 21.91%和 25.20%(图 1B)。

PPM 的添加能够提高甘油和纯水中保藏的 Ri 孢子活性,使甘油中保藏的 Ri 孢子在 4  $^{\circ}\text{C}$  和 -20  $^{\circ}\text{C}$  时对玉米根系侵染率分别提高 8.71%和 12.81%;使纯水中保藏的 Ri 孢子在 -20  $^{\circ}\text{C}$  时对玉米根系侵染率提高 8.24%(图 1B)。

2.1.2 中期保藏 Ri 孢子对侵染玉米的影响 保藏温度相同时,Ri 孢子在甘油中的活性显著低于在纯水中的活性 ( $F_{4^{\circ}\text{C}} = 118.461, P = 0.000; F_{-20^{\circ}\text{C}} = 500.581, P = 0.000$ )。保藏介质为甘油时,Ri 孢子活性不受保藏温度影响;保藏介质为纯水时,Ri 孢子在 4  $^{\circ}\text{C}$  下活性显著高于 -20  $^{\circ}\text{C}$  下活性 ( $F = 57.733, P = 0.002$ )。保藏温度为 4  $^{\circ}\text{C}$  时,Ri 孢子在甘油和纯水介质中保藏 5 个月对玉米根系侵染率分别为 3.55%和 52.92%(图 2A);保藏温度为 -20  $^{\circ}\text{C}$  时,Ri 孢子在甘油和纯水介质中保藏 5 个月对玉米根系侵染率分别为 3.56%和 18.40%(图 2B)。



CK. 原始孢子液;G. 甘油;PW. 纯水;PPM. 植物组培抗菌剂。应用 HSD 法检验各处理间差异显著性,柱子上不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。下同。

图 1 异形根孢囊霉孢子保藏 2 个月后玉米侵染率

Fig. 1 Clonization of *Zea mays* roots of *R. irregularis* spores at different temperatures for 2 months

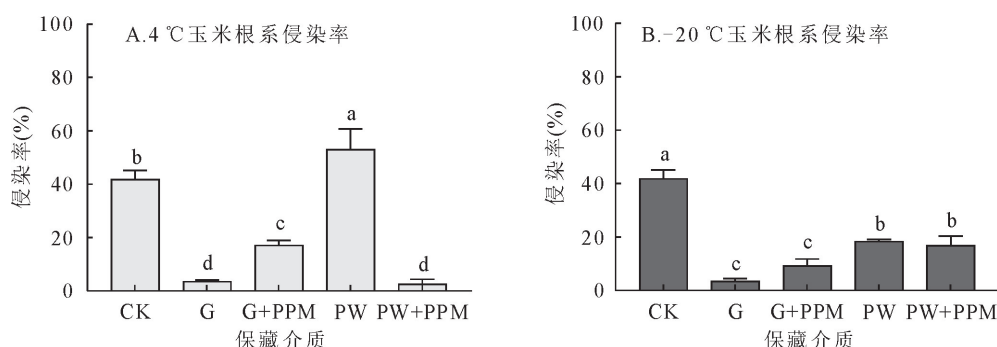


图 2 异形根孢囊霉孢子保藏 5 个月后玉米侵染率

Fig. 2 Clonization of *Z. mays* roots of *R. irregularis* spores at different temperatures for 5 months

PPM 的添加能够提高甘油中保藏的 Ri 孢子活性,而降低纯水中保藏的 Ri 孢子活性,使甘油中保藏的 Ri 孢子在 4  $^{\circ}\text{C}$  和 -20  $^{\circ}\text{C}$  时对玉米根系侵染率分别提高 13.46%和 5.71%;使纯水中保藏的 Ri 孢子在 4  $^{\circ}\text{C}$  和 -20  $^{\circ}\text{C}$  时对玉米根系侵染率分别降低

50.4%和 1.52%。

不同保藏条件下的 Ri 孢子对玉米根系的侵染情况见图 3。

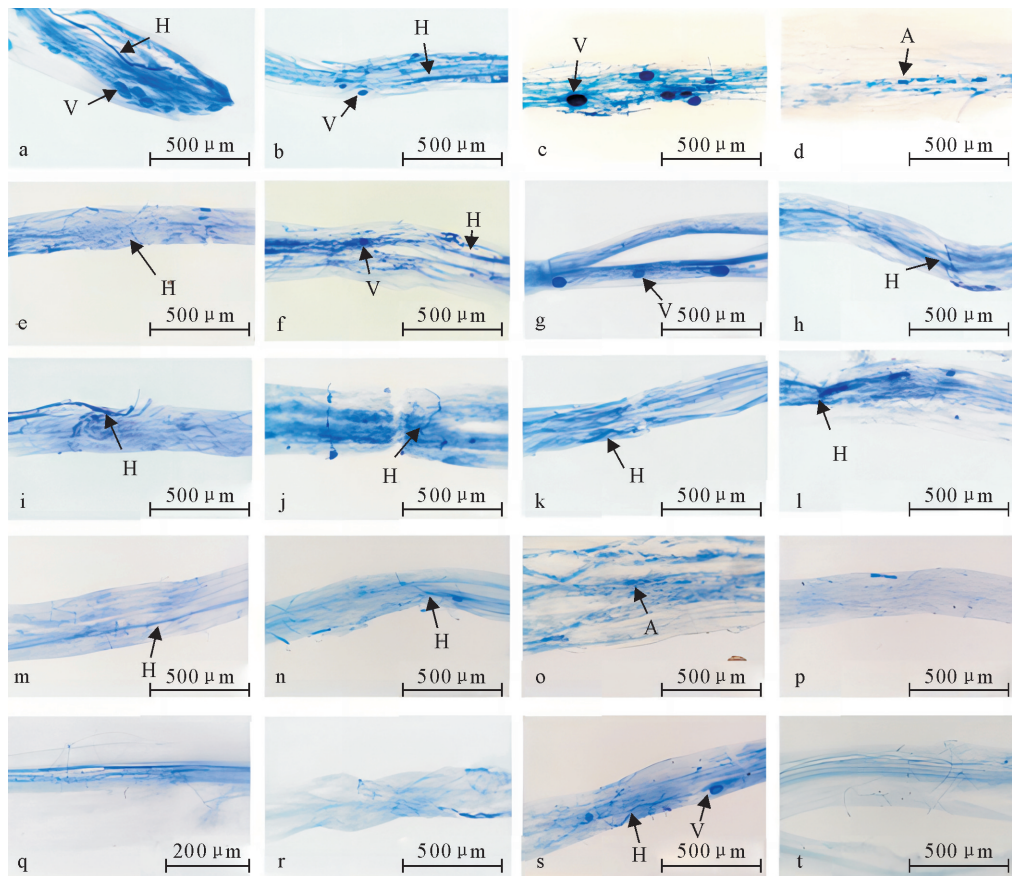
### 2.2 保藏条件对 Ri 孢子侵染三叶草的影响

2.2.1 短期保藏 Ri 孢子对侵染三叶草的影响 保



藏温度相同时,Ri 孢子在甘油和纯水中的活性无显著差异。保藏介质相同时,Ri 孢子在 4 ℃和-20 ℃下活性无显著差异。保藏温度为 4 ℃时,Ri 孢子在甘油和纯水介质保藏 2 个月对三叶草根系的侵染率分别为 21%和 19.20%(图 4A);保藏温度为-20 ℃时,Ri 孢子在甘油和纯水介质保藏 2 个月对三叶草根

系的侵染率分别为 21.44%和 19.57%(图 4B)。  
PPM 的添加能够提高甘油和纯水中保藏的 Ri 孢子活性,使甘油中保藏的 Ri 孢子在 4 ℃和-20 ℃时对三叶草根系侵染率分别提高 15.75%和 27.99%;使纯水中保藏的 Ri 孢子在 4 ℃和-20 ℃时对三叶草根系侵染率分别提高 12.77%和 16.77%。



a~d. 初始 Ri 孢子侵染玉米根系图;e~h. 分别为 4 ℃条件下甘油、甘油+PPM、纯水、纯水+PPM 保藏 2 个月后 Ri 孢子侵染玉米根系图;i~l. 分别为-20 ℃条件下甘油、甘油+PPM、纯水、纯水+PPM 保藏 2 个月后 Ri 孢子侵染玉米根系图;m~p. 分别为 4 ℃条件下甘油、甘油+PPM、纯水、纯水+PPM 保藏 5 个月后 Ri 孢子侵染玉米根系图;q~t. 别为-20 ℃条件下甘油、甘油+PPM、纯水、纯水+PPM 保藏 5 个月后 Ri 孢子侵染玉米根系图;H. 菌丝;V. 泡囊;A. 丛枝。图中 q 标尺为 200 μm,其余标尺为 500 μm。

图 3 不同保藏条件下玉米根系侵染

Fig. 3 Picture of colonization for *Zea mays* roots at different preservation conditions

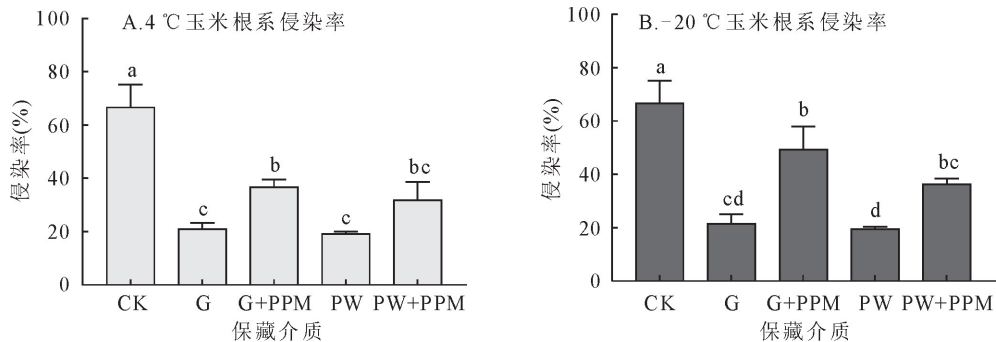


图 4 异形根孢囊霉孢子保藏 2 个月后三叶草侵染率

Fig. 4 Clonization of *Trifolium repens* roots of *R. irregularis* spores at different temperatures for 2 months

2.2.2 中期保藏 Ri 孢子对侵染三叶草的影响 保藏温度相同时,Ri 孢子在甘油中的活性低于在纯水中的活性 ( $F_{4\text{ }^{\circ}\text{C}} = 410.019, P = 0.000; F_{-20\text{ }^{\circ}\text{C}} = 1.047, P = 0.364$ )。保藏介质为甘油时,Ri 孢子活

性不受保藏温度影响;保藏介质为纯水时,Ri 孢子在 4℃下活性显著高于-20℃下的活性( $F=98.052, P=0.001$ )。保藏温度为 4℃时,Ri 孢子在甘油和纯水介质保藏 5 个月对三叶草根系侵染率分别为 12.59%和 71.76%(图 5A);保藏温度为-20℃时,Ri 孢子在甘油和纯水介质保藏 5 个月后对三叶草根系侵染率分别为 12.51%和 18.19%(图 5B)。

PPM 的添加能够提高甘油中保藏的 Ri 孢子活性,而降低纯水中保藏的 Ri 孢子活性,使甘油中保藏的 Ri 孢子在 4℃和-20℃时对三叶草根系侵染率分别提高 10.55%和 2.24%;使纯水中保藏的 Ri 孢子在 4℃和-20℃时对三叶草根系侵染率分别降低 58.45%和 5.11%。

不同保藏条件下的 Ri 孢子对三叶草根系的侵染情况见图 6。

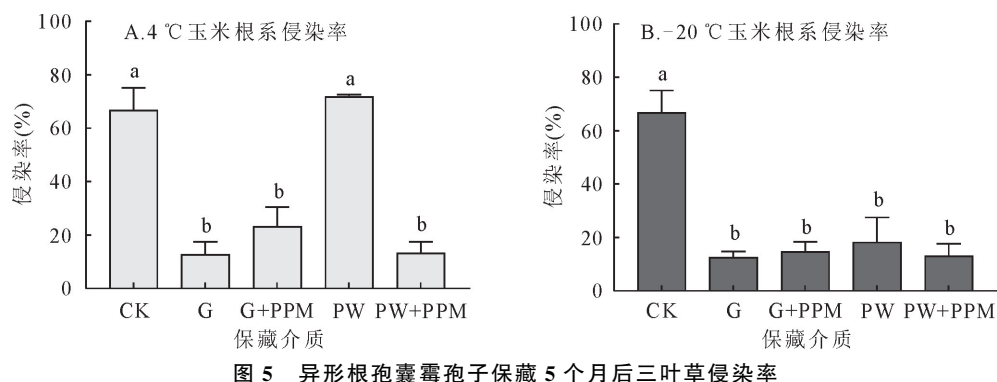
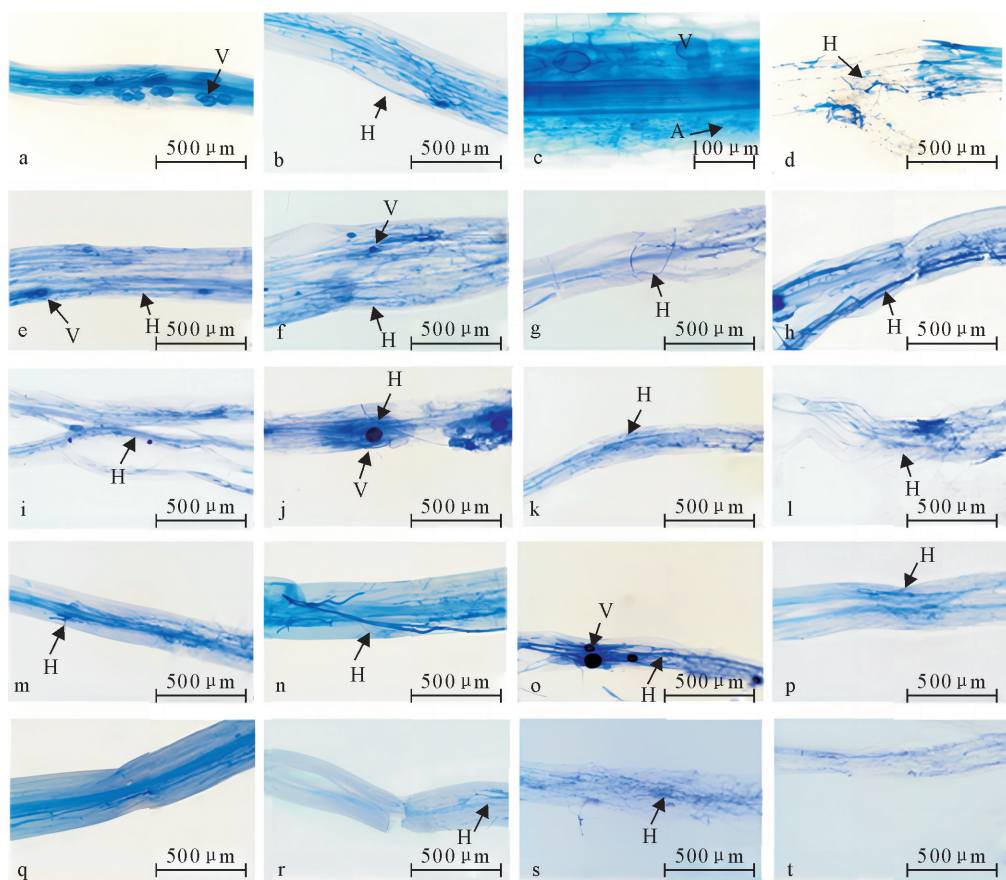


图 5 异形根孢囊霉孢子保藏 5 个月后三叶草侵染率

Fig. 5 Clonization of *T. repens* roots of *R. irregularis* spores at different temperatures for 5 months



a~d. 初始 Ri 孢子侵染三叶草根系图;e~h. 分别为 4℃条件下甘油、甘油+PPM、纯水、纯水+PPM 保藏 2 个月后 Ri 孢子侵染三叶草根系图; i~l. 分别为-20℃条件下甘油、甘油+PPM、纯水、纯水+PPM 保藏 2 个月后 Ri 孢子侵染三叶草根系图;m~p. 分别为 4℃条件下甘油、甘油+PPM、纯水、纯水+PPM 保藏 5 个月后 Ri 孢子侵染三叶草根系图;q~t. 分别为-20℃条件下甘油、甘油+PPM、纯水、纯水+PPM 保藏 5 个月后 Ri 孢子侵染三叶草根系图;H. 菌丝;V. 孢囊;A. 丛枝。图中 C 标尺为 100 μm,其余标尺长度为 500 μm。

图 6 不同保藏条件下三叶草根系侵染

Fig. 6 Picture of colonization for *Trifolium repens* roots at different preservation conditions

### 3 结论与讨论

#### 3.1 结论

研究表明,短期保藏 Ri 孢子时,在纯水和甘油 2 种介质以及在 4 ℃ 和 -20 ℃ 中的孢子活性无显著差异;添加 PPM 能够提高孢子在纯水和甘油中的活性。中期保藏 Ri 孢子时,纯水保藏活性高于甘油;4 ℃ 低温保藏显著提高孢子侵染活性;添加 PPM 能够提高孢子在甘油中保藏的活性,而降低在纯水中保藏的活性。因此,对异形根孢囊霉短期保藏(2 个月)选择纯水+PPM 作为保藏介质于 4 ℃ 保藏;中期保藏(5 个月)选择纯水作为保藏介质于 4 ℃ 保藏。

#### 3.2 讨论

3.2.1 Ri 孢子对不同宿主的侵染情况 AM 真菌对宿主植物的亲和性会因不同宿主而异<sup>[21]</sup>,三叶草和玉米根系接种 AM 真菌后,三叶草根系侵染率高于玉米根系侵染率<sup>[22-23]</sup>。AM 真菌孢子侵染宿主时会受到温度、光照、湿度<sup>[23]</sup>以及土壤营养状况<sup>[24]</sup>等因素的影响。本研究除宿主种类不同外,土壤、真菌、生长环境条件均保持一致,初始新鲜 Ri 孢子对三叶草根系的侵染率为 66.68%,显著高于玉米根系侵染率 41.85%( $F=22.360, P=0.009$ ),这说明宿主是影响侵染率的关键因素。Ri 对三叶草的亲合性高于玉米,可能与两者的根系分泌物<sup>[25,26]</sup>和须根丰富度有关<sup>[23]</sup>。

3.2.2 保藏时间、温度和介质对 Ri 孢子侵染活力的影响 长时间干燥泥沙介质保藏孢子会导致大多数孢子干燥失水,难以维持正常生理状态,最终失去侵染能力,由此可见孢子内部充足的水分是维持其正常生理状态的必要条件<sup>[16]</sup>。本研究选择 30% 甘油及纯水作为保藏介质,能够保证孢子长时间保藏后不会因干燥失水而失去侵染能力。

甘油作为一种冷冻保护剂,与水结合减少冰晶的形成和降低细胞内外未结冰溶液电解质的浓度,可使细胞免受溶质的损伤<sup>[27]</sup>,广泛用于真菌保藏<sup>[28]</sup>。纯水在 -20 ℃ 会结冰从而对其中保藏的孢子造成不利影响<sup>[29]</sup>,理论上,纯水中保藏的孢子活性应该低于甘油中保藏孢子活性,而本研究结果是 2 种介质中孢子活性无差异,这可能与 Ri 孢子本身作为厚垣孢子含有丰富的脂质有关<sup>[30]</sup>,能够有效帮助孢子抵御 -80 ℃ 低温胁迫<sup>[31]</sup>。因此,2 个月时在 -20 ℃、纯水保藏的 Ri 孢子不会受到冻害,从而保持与 4 ℃ 低温下保藏的 Ri 孢子活性同步。

Ri 孢子保藏 5 个月时,在纯水中保藏活性高于在甘油中的保藏活性。离体下的 AM 真菌孢子萌

发会受到 pH、温度、湿度、储存时间及抑制物质的影响<sup>[25]</sup>,甘油本身存在一定的渗透压,会影响水、营养物等进入休眠孢子,不利于休眠孢子萌发;而纯水不存在影响孢子萌发的渗透压,休眠孢子在适宜条件下打破休眠即可正常萌发,因而纯水中保藏的孢子活性高于甘油中。另外,Ri 孢子可能存在后熟作用,纯水中低温保藏 5 个月,一部分 Ri 孢子完成后熟过程,从而提高 Ri 孢子的侵染活性<sup>[12]</sup>。

本研究发现,Ri 孢子在 4 ℃、纯水介质保藏 5 个月会显著提高侵染活性,是因为在 4 ℃ 低温长期保藏后大量休眠孢子打破休眠发挥其侵染作用,另外也可能与 Ri 孢子完成后熟过程有关<sup>[12]</sup>。新鲜孢子发芽缓慢,将其于 6 ℃ 下贮藏数周会大大提高孢子萌发率<sup>[32]</sup>,董昌金等<sup>[25]</sup>将富含 AM 真菌孢子的土壤放在 4 ℃ 冰箱 1~2 个月,孢子萌发率提高 28%~50%,且低温贮藏时间越久,孢子萌发率越高。邵菊芳等<sup>[33]</sup>对球状巨孢囊霉(*Gigaspora margarita*)、摩西斗管囊霉(*Funneliiformis mosseae*)的孢子在 4 ℃ 下贮藏 10~50 d,显著提高了孢子萌发率,说明低温处理和长期储藏是打破休眠的关键步骤。

#### 3.2.3 PPM 的添加对 Ri 孢子侵染活力的影响

本研究发现,PPM 的添加在 2 个月内能够一定程度维持甘油和纯水中保藏的孢子活性,在 2~5 个月能够一定程度上维持甘油中保藏的孢子活性,而降低纯水中保藏的孢子活性。PPM 能够维持孢子活性是由于其具有抗菌的特点,PPM 能够破坏细菌细胞壁主要成分肽聚糖,而对 AM 真菌细胞壁几丁质没有作用,且 AM 真菌为厚垣孢子,PPM 很难穿过其进入孢子内部对其造成不利影响<sup>[31]</sup>。Ri 孢子在含有 PPM 的纯水保藏 5 个月活性反而降低,造成该现象的原因可能是孢子外源性休眠<sup>[34]</sup>。经过 5 个月保藏后,具有抗菌作用的 PPM 成为休眠孢子萌发环境中的一种抑制剂,一部分休眠孢子感知到对自身有害的抗菌剂存在迫使其延迟萌发<sup>[35]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] BONFANTE P. The future has roots in the past: the ideas and scientists that shaped mycorrhizal research[J]. New Phytologist, 2018, 220(4): 982-995.
- [2] 赖文珍,王思佳,胡文涛,等. 华南主要树木丛枝菌根真菌物种多样性调查研究[J]. 西北林学院学报, 2018, 33(6): 171-179.  
LAI W Z, WANG S J, HU W T, et al. Investigation on species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi occurring in the main tree species in southern China[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2018, 33(6): 171-179. (in Chinese)
- [3] 魏玉倩,陈健鑫,郑艳玲,等. 干热河谷不同树龄攀枝花苏铁丛枝菌根真菌多样性研究[J]. 西北林学院学报, 2022, 37(4):



- 203-209.
- WEI Y Q, CHEN J X, ZHENG Y L, *et al.* Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in *Cycas panzhihuaensis* at different tree ages in dry hot valley[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2022, 37(4): 203-209. (in Chinese)
- [4] 袁丽环, 王文科. 接种 AM 菌根对翅果油树幼苗生长及叶片光合作用的影响[J]. 西北林学院学报, 2011, 26(4): 33-35, 127.
- YUAN L H, WANG W K. Influence of AM fungi on seedling growth and photosynthesis of *Elaeagnus mollis* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2011, 26(4): 33-35, 127. (in Chinese)
- [5] 韦素贞, 张好强, 胡文涛, 等. AM 真菌和施钾对宁夏枸杞响应干旱胁迫的交互影响[J]. 西北林学院学报, 2016, 31(5): 165-170, 260.
- WEI S Z, ZHANG H Q, HU W T, *et al.* Interactive effects of arbuscular mycorrhizal fungus and potassium application on response of *Lycium barbarum* to drought stress[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2016, 31(5): 165-170, 260. (in Chinese)
- [6] SHENG M, TANG M, CHEN H, *et al.* Influence of arbuscular mycorrhizae on photosynthesis and water status of maize plants under salt stress[J]. Mycorrhiza, 2008, 18(6): 287-296.
- [7] HAN Y, ZVEUSHE O K, DONG F, *et al.* Unraveling the effects of arbuscular mycorrhizal fungi on cadmium uptake and detoxification mechanisms in perennial ryegrass (*Lolium perenne*) [J]. Science of the Total Environment, 2021, 798: 149222.
- [8] 陈保冬, 于萌, 郝志鹏, 等. 丛枝菌根真菌应用技术研究进展[J]. 应用生态学报, 2019, 30(3): 1035-1046.
- CHEN B D, YU M, HAO Z P, *et al.* Research progress in arbuscular mycorrhizal technology[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(3): 1035-1046. (in Chinese)
- [9] SAFIR G R, COLEY S C, SIQUEIRA J O, *et al.* Improvement and synchronization of VA mycorrhiza fungal spore germination by short-term cold storage[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1990, 22(1): 109-111.
- [10] TOMMERUP I C. Spore dormancy in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Transactions of the British Mycological Society, 1983, 81(1): 37-45.
- [11] 赵之伟. 温度、pH 和后熟处理对缩球囊霉孢子萌发的影响[J]. 微生物学通报, 1999, 26(6): 397-399.
- ZHAO Z W. The influence of temperature pH and aging storage on the germination of *Glomus constrictum* spores[J]. Microbiology China, 1999, 26(6): 397-399. (in Chinese)
- [12] KOSKE R E. *Gigaspora gigantea*: observations on spore germination of a VA-mycorrhizal fungus[J]. Mycologia, 1981, 73(1): 288-300.
- [13] LALAYMIA I, CRANENBROUCK S, DECLERCK S. Maintenance and preservation of ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Mycorrhiza, 2014, 24(5): 323-37.
- [14] DOUDS D D, SCHENCK N C. Cryopreservation of spores of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi[J]. New Phytologist, 1990, 115(4): 667-674.
- [15] TOMMERUP I C. Long-term preservation by L-drying and storage of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Transactions of the British Mycological Society, 1998, 90(4): 585-591.
- [16] 张淑彬, 王幼珊. 保藏条件对丛枝菌根真菌 *Glomus mosseae* 侵染的影响[J]. 菌物研究, 2012, 10(4): 231-233.
- ZHANG S S, WANG Y S. Effects of preservation conditions on colonization of arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus mosseae* [J]. Journal of Fungal Research, 2012, 10(4): 231-233. (in Chinese)
- [17] GERDEMANN J W, NICOLSON Y J. Spore of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decantation[J]. Transactions of British Mycological Society, 1963, 46(2): 235-244.
- [18] PHILLIPS J M, HAYMAN D. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection[J]. Transactions of the British Mycological Society, 1970, 55(1): 158-161.
- [19] MCGONIGLE T P, MILLER M H, EVANS D G, *et al.* A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi[J]. The New Phytologist, 1990, 115(3): 495-501.
- [20] HU W T, PAN L, CHEN H, *et al.* VBA-AMF: a VBA program based on the magnified intersections method for quantitative recording of root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Indian Journal of Microbiology, 2020, 60(3): 374-378.
- [21] BHARADWAJ D P, LUNDQUIST P O, ALSTROM S. Impact of plant species grown as monocultures on sporulation and root colonization by native arbuscular mycorrhizal fungi in potato[J]. Applied Soil Ecology, 2007, 35(1): 213-225.
- [22] 龙良鲲, 姚青, 羊宋贞, 等. 扩繁条件对两种 AMF 菌剂接种势的影响[J]. 微生物学通报, 2007(2): 204-207.
- LONG L K, YAO Q, YANG S Z, *et al.* Effect on the inoculum potential of two kinds of arbuscular mycorrhizal fungi inoculum by the propagation conditions[J]. Microbiology China, 2007(2): 204-207. (in Chinese)
- [23] 李媛媛, 王晓娟, 豆存艳, 等. 四种宿主植物及其不同栽培密度对 AM 真菌扩繁的影响[J]. 草业学报, 2013, 22(5): 128-135.
- LI Y Y, WANG X J, DOU Y C, *et al.* Effects of four host plants and different cultivation densities on the propagation of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2013, 22(5): 128-135. (in Chinese)
- [24] 刘文科, 冯固, 李晓林. 三种土壤上六种丛枝菌根真菌生长特征和接种效应[J]. 植物营养与肥料学报, 2006(4): 530-536.
- LIU W K, FENG G, LI X L. The growth characteristics and symbiotic effectiveness of six arbuscular mycorrhizal fungi on three soils associated with maize[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2006(4): 530-536. (in Chinese)
- [25] 董昌金, 赵斌. 影响丛枝菌根真菌孢子萌发的几种因素研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2003(4): 489-494.
- DONG C J, ZHAO B. Effect of several factors on germination of AM fungal spores[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2003(4): 489-494. (in Chinese)
- [26] SASSE J, MARTINOIA E, NORTHERN T. Feed your friends: do plant exudates shape the root microbiome? [J]. Trends in Plant

- Science, 2018, 23(1): 25-41.
- [27] BRILHANTE R S, SILVA N F, LIMA R A, *et al.* Easy storage strategies for *Sporothrix* spp. strains[J]. Biopreservation and Biobanking, 2015, 13(2): 131-134.
- [28] GUJJARI P, MULDROW T, ZHOU J J. Effect of cryopreservation protocols on the phenotypic stability of yeast[J]. Cryo Letters, 2010, 31(3): 261-267.
- [29] VARGA S, FINOZZI C, VESTBERG M, *et al.* Arctic arbuscular mycorrhizal spore community and viability after storage in cold conditions[J]. Mycorrhiza, 2015, 25(5): 335-343.
- [30] SMITH D. The use of cryopreservation in the ex-situ conservation of fungi[J]. Cryo Letters, 1998, 19(2): 79-90.
- [31] DECLERCK S, COPPENOLLE A V. Cryopresentation of entrapped monoxenically produced spores of an arbuscular mycorrhizal fungus[J]. New Phytologist, 2000, 148(1): 169-176.
- [32] HEPPEL C M, SMITH G A. Observation's on the germination of *Endogone* spores[J]. Transactions of the British Mycological Society, 1976, 66(2): 189-194.
- [33] 邵菊芳, 朱红威, 杨晓红, 等. AM 真菌孢子萌发及其与白三叶草双重培养研究初报[J]. 中国农学通报, 2008, 24(8): 287-291.
- SHAO J F, ZHU H W, YANG X H, *et al.* Primary study of spores germination of AM fungi and the dual culture with clover roots[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2008, 24(8): 287-291. (in Chinese)
- [34] 邢来君, 李明春, 喻其林. 普通真菌学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2010: 162-179.
- [35] WILSON G, HETRICK B, KITT D G. Suppression of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus spore germination by non-sterile soil[J]. Canadian Journal of Botany, 1989, 67(1): 18-23.

(上接第 124 页)

- [22] 张甜, 李龙龙. 中条山不同森林类型土壤和枯落物的水文性能分析[J]. 森林工程, 2022, 38(3): 32-39.
- [23] SU X P, WANG M H, HUANG Z Q, *et al.* Forest understorey vegetation: colonization and the availability and heterogeneity of resources[J]. Forests, 2019, 10(11): 944.
- [24] 张维伟, 赵忠, 刘金良, 等. 桥山林区 3 种麻栎群落类型的种群动态与幼苗特征[J]. 林业科学, 2021, 57(7): 1-10.
- ZHANG W W, ZHAO Z, LIU J L, *et al.* Population dynamics and seedling characteristics of three species of *Quercus* in Qiaoshan forest area[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2021, 57(7): 1-10. (in Chinese)
- [25] 吴海平, 孙清琳, 张彦君, 等. 不同密度油松人工林群落特征与物种多样性耦合关系[J]. 西北林学院学报, 2022, 37(5): 1-8.
- WU H P, SUN Q L, ZHANG Y J, *et al.* Coupling relationship between community characteristics and species diversity of *Pinus tabulaeformis* plantations with different densities [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2022, 37(5): 1-8. (in Chinese)
- [26] 李国雷, 刘勇, 郭蓓, 等. 保留密度对飞播油松林下植被发育影响的研究[J]. 西北林学院学报, 2007, 22(3): 105-110.
- LI G L, LIU Y, GUO B, *et al.* Study on the effect of retention density on vegetation development under aerial seeding of *Pinus tabulaeformis* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2007, 22(3): 105-110. (in Chinese)
- [27] 于洋, 贾志清, 刘艳书. 青海共和盆地植被恢复区主要植物群落物种组成与多样性[J]. 中南林业科技大学学报, 2016, 36(3): 18-22, 27.
- YU Y, JIA Z Q, LIU Y S. Species composition and diversity of main plant communities in the revegetation area of Gonghe Basin, Qinghai [J]. Journal of Central South University of Forestry and Technology, 2016, 36(3): 18-22, 27. (in Chinese)
- [28] PETER C. Mechanisms of maintenance of species diversity [J]. Annual Review of Ecology and Systematics, 2000, 31: 343-358.
- [29] 刘海涛, 贾志清, 颜守保. 高寒沙地不同林龄乌柳林下植物物种多样性[J]. 安徽农业大学学报, 2015, 42(5): 761-768.
- [30] 叶柳欣, 库伟鹏, 刘军, 等. 封育年限对毛竹林群落结构和林下植物多样性的影响[J]. 生态学报, 2020, 40(3): 921-930.
- YE L X, KU W P, LIU J, *et al.* Effects of enclosure term on community structure and undergrowth diversity of *Phyllostachys pubescens* [J]. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(3): 921-930. (in Chinese)
- [31] YU Q, LI X Y, ZHAO F X, *et al.* Accumulation of soil organic carbon during natural restoration of desertified grassland in China's Horqin sandy land [J]. Journal of Arid Land, 2015, 7(3): 328-340.
- [32] WANG S K, ZUO X A, ZHAO X Y, *et al.* Responses of soil fungal community to the sandy grassland restoration in Horqin sandy land, northern China [J]. Environ Monit Assess, 2016, 188(1): 21.