

接种 AMF 对葡萄微繁苗生长效应的研究

谢丽源^{1,3}, 张 勇^{2,3}, 熊丙全³, 曾 明³

(1. 四川省农业科学院 土壤肥料研究所 四川 成都 610066; 2. 电子科技大学 生命科学与技术学院 四川 成都 610054 3. 西南大学 研究生部, 重庆 400716)

摘 要:以葡萄为试验材料,在练苗期间接种 AMF 孢子菌剂,研究微繁苗移栽过程中 AMF 侵染过程,分析菌根化进程中微繁苗根系活力的变化以及 AM 共生体对微繁苗生长发育的促进效应。结果表明:AMF 对葡萄微繁苗的生长发育具有重要促进作用,能够促进根系活力,微繁苗根系磷酸酶活性与 AMF 侵染率存在显著相关性。接种 AMF 可增强幼苗根系活力,促进根系对 N、P 等矿质养分的吸收和积累,并促进植株的光合作用,提高幼苗的生长势。

关键词:葡萄;微繁苗;丛枝菌根真菌;生长效应

中图分类号:S 663.103.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)05-0018-06

第一作者简介:谢丽源(1977-),女,硕士,助研,现从事菌根生物技术研究工作。

通讯作者:曾明(1963-),男,博士,教授,现主要从事果树菌根技术研究工作。E-mail:xieliyuan77@163.com。

基金项目:国家科技攻关资助项目(2001BA604A05);重庆市应用基础研究资助项目(20001095)。

收稿日期:2009-12-16

自然条件下,绝大多数植物都可形成菌根,其中丛枝菌根(Arbuscular Mycorrhiza, AM)是最普遍的类型。AM 是植物根系和丛枝菌根真菌(Arbuscular Mycorrhizal Fungi, AMF)形成的共生体(Symbiont),目前已经确知,AM 在促进植物生长,提高养分吸收率,生态系统养分循环及保护植物抵御不良环境胁迫中起关键作用。

[4] 马玉明.内蒙古资源大辞典[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社 1997: 1362-1363.

[5] 郑晓飞.从富含多糖的植物组织中提取和纯化 RNA[M]//RNA 实验技术手册.北京:科学出版社,2004:44-46.

[6] 杨亮,付丽娅,刘仲齐,等.富含多糖番茄果实组织中总 RNA 的有效提取方法[J].南开大学学报(自然科学版),2005,38(5):36-39.

[7] 夏海武,吕柳新,陈桂信.羊蹄甲果实中总 RNA 提取的新方法[J].分子植物育种,2006,4(1):147-149.

[8] 庄军平,苏菁,陈维信.一种从香蕉果实提取高质量 RNA 的方法[J].

分子植物育种,2006,4(1):143-146.

[9] López-Gómez R, Gómez-Lim M A. A method for extracting intact RNA from fruits rich in polysaccharides using ripe mango mesocarp[J]. HortSci, 1992, 27:440-442.

[10] 杜中军,徐兵强,黄俊生,等.一种改进的富含多糖的芒果组织中完整总 RNA 提取方法[J].植物生理学通讯,2005,41(2):202-204.

[11] Ainsworth C. Isolation of RNA from tissue of Rumex acetosa(sorrel)[J]. Plant Mol Biol Reptr, 1994(12):198-203.

Comparative Test of Methods of Extracting Total RNA from Melon (*Cucumis melo*) Rich in Polysaccharides

HAO Jin-feng, HASI Agula

(Biotechnology Center, College of Life Sciences, Inner Mongolia University, Inner Mongolia Key Laboratory of Herbage and Endemic Crop Biotechnology, Hohhot, Inner Mongolia 010021)

Abstract: Took melon fruit as experimental material, three extraction methods of total RNA including guanidinium isothiocyanate extraction, CTAB extraction and SDS extraction were compared, combining two methods of eliminating polysaccharide by KAc or low concentration ethanol, respectively. The results showed that guanidinium isothiocyanate with KAc extraction method was more capable of efficiently eliminating polysaccharide compared with the others. For this method, the brightness of 28S rRNA of obtained RNA was two times as much as that of 18S rRNA, OD₂₆₀/OD₂₈₀ value was above 1.8, and the RNA productivities were 64.48 μg/g. The obtained RNA was successfully used to amplify a specific 2.3 kb cDNA fragment of melon *Cm-ETR1* gene by RT-PCR. These results showed that guanidinium isothiocyanate with KAc extraction method was an effective RNA extraction method for those materials affluent in polysaccharide content, and the integrity and purity of extracted total RNA could meet the demand of molecular biology experiments.

Key words: melon; RNA; polysaccharide

丛枝菌根真是一种专性寄生营养微生物,可以和自然界中绝大多数植物形成互惠共生体。大多数研究表明,丛枝菌根共生体可以促进植物生长,提高养分吸收率及控制病原菌的发生^[1]。目前已经确知,丛枝菌根在促进植物生长,提高养分吸收率,生态系统养分循环及保护植物抵御不良环境胁迫中起关键作用^[2,3]。更重要的是,由于AM共生体可以帮助植物抵御不良环境胁迫及病虫害,从而使植物健康生长,这就提供了一种既可减少化学肥料和杀虫剂施用量,但又不影响农作物正常生长发育的新技术^[1]。因为AM对植物健康生长有利,研究者对AM生物技术及其在生产实践中的应用进行了广泛研究,取得了较大进展。

葡萄是形成AM的植物,可被多种AMF所侵染,并且其生长发育在很大程度上依赖于AMF的侵染及AM的形成^[4,5]。到目前为止,用离体培养快速繁育葡萄种苗木技术已有很大发展,但葡萄微繁苗是在无菌条件下繁殖的,缺少菌根真菌的感染,导致苗木生长状况差、抵抗力弱、成活率低。为此,对微繁苗及早接种AMF,培育出菌根化葡萄微繁苗,提高微繁苗的移栽成活率,促进幼苗生长,可以提高葡萄优良和稀缺品种的繁育效率^[6]。

该试验以葡萄为试材,在练苗期间接种AMF孢子菌剂,研究微繁苗移栽过程中的AMF侵染过程,分析菌根化进程中微繁苗根系活力的变化以及AM共生体对微繁苗生长发育的促进效应,以期了解早期接种AMF对于植物微繁苗生长发育的影响,同时为AM菌根化技术在植物微繁苗培育中的合理应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

植物材料:陕西师范大学生命科学学院提供“红提”葡萄(*Vitis vinifera* L.)微繁苗。

AMF菌剂:日本东京大学Ishii T教授惠赠之摩西球囊霉(*Glomus mossesae*)、珠状巨孢囊霉(*Gigaspora margarita*)孢子菌剂。

1.2 试验方法

1.2.1 微繁苗移栽及AMF接种 育苗介质为珍珠岩,在0.1 MPa压力下消毒2 h,备用。选具3~4个叶片,2~3条5 cm长细根,3~4 cm高,长势一致葡萄微繁苗。用塑料育苗盒盛装已灭菌珍珠岩,至2/3容器高时,加2 g菌剂。取葡萄微繁苗,洗净根部琼脂,移栽于育苗盒内,在根部覆盖3 cm厚珍珠岩。以接种2 g灭菌的AMF菌剂及10 mL菌种滤液为对照,每处理120株。

1.2.2 微繁苗移栽培养 移栽后,用含1/4 P素的Hoagland完全营养液浇透。置于空调组培室内,保持相对湿度90%,气温25~27℃,土温22~25℃。每周浇1次1/4P的Hoagland完全营养液,常规水分管理,介质含水量保持60%。

1.3 测定方法

AMF侵染率:2 cm长根尖端于FAA液中固定,按Phillips & Hayman^[7]的方法对菌根染色,每处理观察16个根尖,4次重复。菌根侵染率(%)=(侵染根段长/观察根段长)×100%。酸(碱)性磷酸酶活性以南京建成生物研究所ACP、AKP试剂盒进行测定,3次重复。硝酸还原酶活性、蛋白质含量、可溶性糖含量、叶绿素含量、光合速率、N、P、K含量按文献^[8,11]的方法进行。

1.4 数据处理

所有数据处理均在SPSS 11.0统计软件下完成,采用单因素方差分析(one way ANOVA)和LSD进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 AMF对葡萄微繁苗的侵染过程

接种AMF后,定期检测葡萄微繁苗根系AMF侵染率及丛枝、泡囊等AM共生体特征结构发育程度,结果表明,接种AMF后,存在一个缓慢侵染时期(图1)。接种2周时,在微繁苗根表观察到有少量无分隔的菌丝入侵,皮层组织的细胞内开始形成丛枝结构,其侵染率较低,约为18.8%,没有泡囊产生。此后,AMF对微繁苗的侵染速度加快,接种3周时,有胞间泡囊产生。5周后,丛枝密集,可见少量胞间泡囊,在皮层组织的细胞间有粗的纵向伸延的菌丝,菌根侵染率达79.2%。接种6周后,AMF对葡萄微繁苗的侵染进入持续侵染时期,部分细胞内可见有丛枝开始消解,新的丛枝也在大量形成,在皮层细胞间和细胞内均有很多圆形至椭圆形的泡囊形成,菌根侵染率增长幅度趋缓。6周时侵染率为80.2%,7周为81.7%,8周为82.3%。

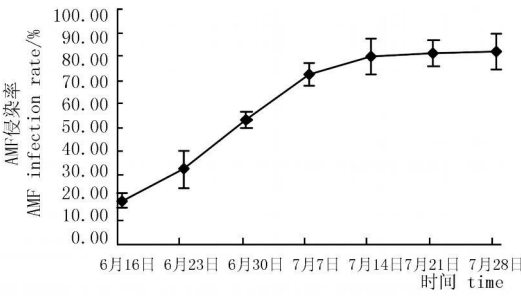


图1 AMF对葡萄微繁苗的侵染过程
Fig. 1 The time course of the percentage infection of micropropagated grape with AMF

2.2 AMF对葡萄微繁苗根系活力的影响

Tisserant等^[12]用不同的组织化学染色方法研究最恰当的AM染色鉴定程序,发现菌根组织中AMF胞内菌丝的磷酸酶活性与真菌的侵染过程有明显的相关性。通过磷酸酶组织化学染色方法,可快速、准确的鉴定菌根组织中有无活性AMF菌丝结构。

定期测定接种 AMF 的葡萄微繁殖苗及未接种的对照根系的磷酸酶活性, 结果表明, 接种 AMF 后, 葡萄根系酸性磷酸酶 (Acid Phosphatase, ACP) 及碱性磷酸酶 (Alkaline Phosphatase, AKP) 与未接种 AMF 的对照相比, 活性有显著的提高, 说明 AMF 能促进根系磷酸酶的活性(图 2)。随着 AMF 菌丝对根系侵染的进行, 其对根系磷酸酶活性的促进作用也随之增强。但磷酸酶活性升高到一定值后, 随 AMF 侵染的继续进行, 磷酸酶活性有下降趋势, 尤其是 ACP。根系 ACP 活性达最高值后开始急剧下降, 其活性与对照相比, 差异已不明显; 而当根系 AKP 活性升高到最大后, 其活性也有下降趋势(图 2)。

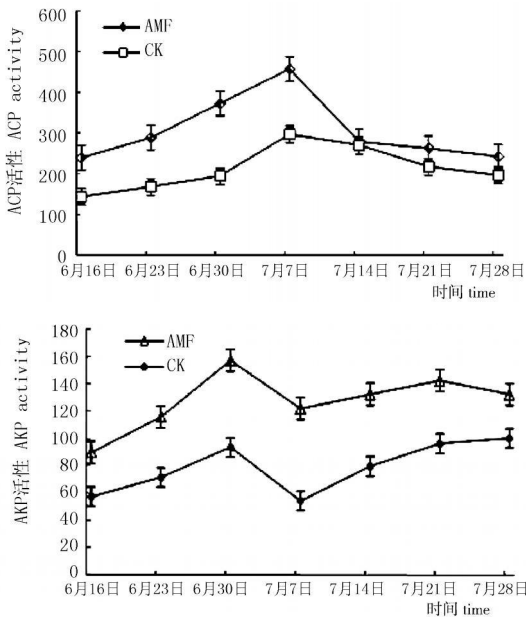


图 2 AMF 对根系 ACP、AKP 活性的影响
Fig. 2 The effect of AMF on ACP and AKP activity of micropropagated grape root

进一步对接种 AMF 后, 菌根化葡萄微繁殖苗根系 ACP、AKP 活性变化进行分析, 发现菌根化微繁殖苗根系 ACP、AKP 活性与 AMF 侵染程度存在显著相关性, 表现为二次非线性相关曲线(图 3)。即根系 ACP、AKP 活性随 AMF 侵染率的增加而升高, 当 AMF 侵染率增加到一定值时, ACP、AKP 活性达最高, 此后, 随 AMF 侵染率的增高, ACP、AKP 活性逐渐降低。

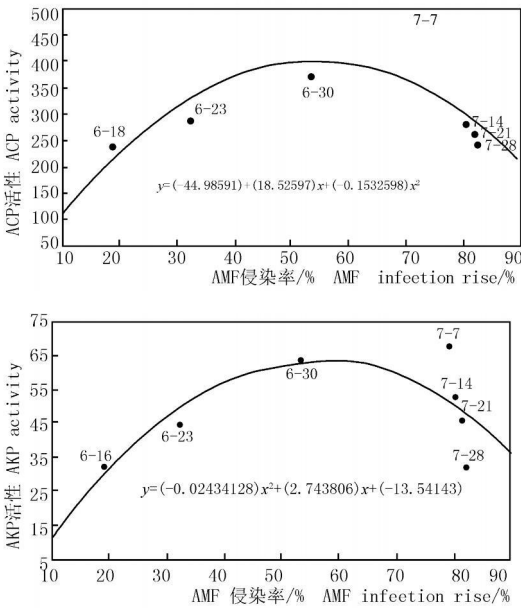


图 3 ACP、AKP 活性与 AMF 侵染率相关性分布
Fig. 3 The correlation between the ACP, AKP activity and AMF infection rate

2.3 AMF 对微繁殖苗光合作用的影响

对葡萄微繁殖苗在接种 AMF 前后叶绿素含量、光合速率及硝酸还原酶活性进行分析, 发现接种 AMF 后葡萄微繁殖苗叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素 c 和总叶绿素含量均明显高于对照, 且提高了叶绿素 a/b 的比值, 有利于宿主植株对光能的利用。菌根植株的光合速率与对照相比有明显提高; 同时, 接种 AMF 后, 宿主植株硝酸还原酶的活性也有显著提高, 表明 N 利用率有较大提高, 有利于光合产物的形成(表 1)。AMF 通过改善光能利用率、光合效率及光合产物形成和积累方面, 提高了宿主植株光合作用的整体表现。

2.4 AMF 对葡萄微繁殖苗生长效应的研究

接种 AMF 和不接种 AMF 对葡萄微繁殖苗地上部和根系的 N、P、K 含量进行测定, 发现接种 AMF 对葡萄微繁殖苗的矿质养分积累有重要作用, 研究表明, 接种 AMF 后葡萄微繁殖苗地上部和根系的 N、P 含量明显高于对照, 其中 P 含量的提高尤为明显。菌根植株 K 含量与对照相比差异不显著, AMF 对 K 积累的作用不明显(表 2)。

表 1 接种 AMF 对葡萄微繁殖苗叶绿素含量、光合速率及硝酸还原酶活性的影响

Table 1 Effects of AMF inoculation on chlorophyll content, photosynthetic rate and nitrate reductase of micropropagated grape							
处理 Treatments	叶绿素 a Chlorophyll a/ % FW	叶绿素 b Chlorophyll b/ % FW	叶绿素 a/b Chlorophyll a/ b	叶绿素 c Chlorophyll c/ % FW	总叶绿素 Total chlorophyll/ % FW	光合速率 Photosynthetic rate / mg · dm ⁻² h ⁻¹	硝酸还原酶 Nitrate reductase / NO ⁻² ug · g ⁻¹ FW h ⁻¹
AMF	1.508 ± 0.083 a	0.893 ± 0.002 a	1.689 ± 0.090 a	0.290 ± 0.024 a	2.401 ± 0.085 a	13.675 ± 0.916 a	26.165 ± 2.316 a
CK	1.157 ± 0.056 b	0.754 ± 0.051 b	1.537 ± 0.029 a	0.203 ± 0.022 b	1.911 ± 0.107 b	10.136 ± 1.126 b	16.563 ± 3.631 b

注 数值表示平均值±标准误差; 不同字母表示邓肯氏多重比较(P=0.05)。以下同。
Note: The figure means Mean±Standard Error; The different latter means Duncan's new multiple range test, (P=0.05). The same as below.

表 2 接种 AMF 对葡萄微繁殖 N、P、K 含量的影响

Table 2 Effects of AMF inoculation on the contents of N, P and K in micropropagated grape 处理						
处理 Treatments	N 含量 Contents of N/ %		P 含量 Contents of P/ %		K 含量 Contents of K/ %	
	地上部 Shoot	根系 Root	地上部 Shoot	根系 Root	地上部 Shoot	根系 Root
AMF	3.06±0.31 ^{XaY}	3.24±0.26 ^a	0.32±0.019 ^a	0.37±0.021 ^a	1.18±0.17 ^a	1.23±0.16 ^a
CK	2.53±0.26 ^b	2.66±0.28 ^b	0.15±0.016 ^b	0.19±0.018 ^b	1.12±0.19 ^a	1.24±0.19 ^a

接种 AMF 和不接种 AMF 的葡萄微繁殖苗的蛋白质和可溶性糖含量测定,发现 AMF 对葡萄微繁殖苗叶片蛋白质及糖分的积累也有重要作用。接种 AMF 葡萄微繁殖苗叶片的蛋白质及糖分含量均超过对照植株,说明 AMF 对叶片蛋白质及糖分的合成、积累有显著的促进作用(表 3)。对接种 AMF 的葡萄微繁殖苗生长发育的指标,如单株干样质量、株高、根冠比、叶片数、地径等进行测定,并与对照进行比较。结果表明,接种 AMF 能促进葡萄微繁殖苗生长发育。接种 AMF 后,植株的干样质量有显著增加,其中根系干样质量增加尤为明显,而地上部干样质量增加不明显,植株根冠比明显增大。AMF

对植株的高度也有明显的促进作用,其根长和株高均显著高于对照;叶片数目增多,地径增粗(表 4、图 4)。

表 3 接种 AMF 对葡萄微繁殖蛋白质含量及含糖量的影响

Table 3 Effects of AMF inoculation on protein and soluble sugar contents in micropropagated grape		
处理 Treatments	蛋白质含量 Protein contents/ mg · g ⁻¹ FW	可溶性糖含量 Soluble sugar contents/ % FW
AMF	3.56±0.56 ^{XaY}	1.78±0.26 ^a
CK	2.60±0.37 ^b	1.31±0.21 ^b

表 4 接种 AMF 对葡萄微繁殖苗生长发育的影响

Table 4 Effects of AMF inoculation on growth and development of micropropagated grape							
处理 Treatments	单株干样质量 Dry mass per plant/ g		株高 Plant length/ cm		根冠比	叶片数	地径
	根系 Root	地上部 Shoot	根系 Root	地上部 Shoot	Root/shoot ratio	Leaf number	Crown diameter/ cm
AMF	0.14±0.037 ^{XaY}	0.07±0.008 ^a	13.63±1.40 ^a	19.08±4.66 ^a	0.57±0.13 ^a	17.67±2.60 ^a	0.21±0.006 ^a
CK	0.09±0.023 ^a	0.03±0.009 ^b	10.43±1.90 ^b	9.58±1.03 ^b	0.42±0.19 ^b	10.25±1.25 ^b	0.13±0.030 ^b

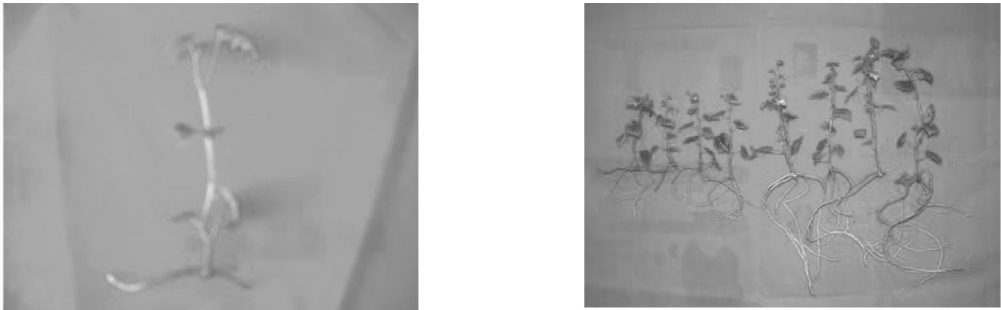


图 4 接种 AMF 对葡萄微繁殖苗生长发育的影响(左: 练苗前; 右: 练苗后)

Fig. 4 Effects of AMF inoculation on growth and development of micropropagated grape
(Left: before weaning stage; Right: after weaning stage)

3 讨论

3.1 AMF 对葡萄微繁殖苗侵染特点

刘润进等^[2]揭示 AMF 对宿主植株的侵染过程同其它生物生长发育一样,呈“S”曲线。在 AMF 侵染初期,有一个时间长短不同的迟缓期,此期 AMF 侵染扩散缓慢。罗焕亮等^[13]在研究 AM 对植物的增效作用时也发现,AMF 对植物作用时总存在一个开始缓慢而逐渐加速增长的过程,应证了 AMF 的生长发育动态特点。该试验中,AMF 对葡萄微繁殖苗的侵染曲线表明:AMF 接种后有个缓慢侵染时期,此期 AMF 侵染扩展缓慢;在接

种 2 周后葡萄微繁殖苗根部出现丛枝。但也有研究者认为葡萄微繁殖苗接种 AMF 后 20 d 根部才出现丛枝结构^[14],这可能是试验条件和选用菌种的差异造成。Tommcrup^[15]认为产生迟缓期的原因可能与接种物中孢子具有休眠性有关,其原因还有待进一步研究。经过这段迟缓期后,AMF 对葡萄微繁殖苗的侵染速度加快,丛枝大量形成,并有孢囊产生,当 AMF 达到侵染高峰后,侵染率有一定的下降,之后维持相对恒定的侵染率,与根系生长达到动态平衡。

3.2 AMF 与宿主植株根系活力的关系

菌根真菌的侵染可以改变宿主植物的根系性状及生理生化性状,进而影响根系本身对土壤养分的吸收活性^[16],姜德锋等^[17]也通过试验证明接种 AMF 对玉米根系活力有显著提高。通常认为磷酸酶是一种诱导酶,增加菌根际和根系活力可以提高其活性^[18],菌根组织中磷酸酶活性高低与 AMF 对宿主植物的侵染过程有明显的相关性^[12]。因此该试验用磷酸酶活性的强弱来衡量根系活力,以研究接种 AMF 对葡萄微繁苗根系活力的影响作用。研究发现,随 AMF 对葡萄微繁苗根系的侵染,磷酸酶活性有显著增强,这与宋勇春等^[19]研究 AMF 对玉米根际磷酸酶活性的影响得出的结果相吻合,说明 AMF 确实能促进微繁苗根系活性。Dodd 等^[20]发现受 *Gl. mosseae* 侵染的植物根际的磷酸酶活性来源于植物根系和 AMF,已有研究证实丛枝菌根的外生菌丝能产生磷酸酶^[18]。对该试验结果进行相关性分析发现根系磷酸酶活性与 AMF 侵染率存在显著相关性,其相关曲线为二次曲线。这些事实表明接种 AMF 可以促进植物根系生长,一方面使根系分泌物和脱落物数量增加,土壤微生物活性增强;另一方面菌根真菌菌丝分泌磷酸酶,各因素相互作用进而促进了植物的根系活力。但是菌根和非菌根处理间土壤磷酸酶活性的比较,只能提供菌丝释放磷酸酶的间接证据,需要通过更直接的试验方法为菌丝能否分泌磷酸酶提供直接证据^[21],而且磷酸酶作为衡量根系活力的指标还需要进一步寻找证据证明,AMF 促进磷酸酶活性的机理也尚待进一步探索。

3.3 AMF 对葡萄微繁苗矿质养分吸收的生理效应

AMF 的主要功能之一就是改善植物的矿质营养,大量试验证明 AMF 能够显著改善微繁苗对矿质元素的吸收^[3]。Vidal 等^[22]的研究结果表明,鳄梨微繁苗在转入驯化培养时及时接种 AMF,可使幼苗形成良好的根系统,促进根、茎生长,提高根茎比,增加植物组织中 N、P、K 含量。该试验结果表明,接种 AMF 对移栽后的葡萄微繁苗 N、P 积累均有显著的增强作用,其中 P 含量的提高尤为明显,而对 K 积累的作用不明显。

土壤有机 P 是植物 P 营养的重要来源,但有机 P 必须在各种磷酸酶的作用下转化为无机 P 才能为植物根系和土壤微生物吸收利用。AMF 可侵染众多植物,通过增加宿主植物对土壤 P 的吸收利用,从而改善植物 P 含量,促进其生长发育的现象已为人们所熟知^[23]。Karagiannidis 等^[5]发现 AMF 侵染率高的葡萄植株有较高的 P 利用率。该试验也证明,接种 AMF 可以增强根系磷酸酶活性,从而使菌根化微繁苗能获得更多可利用的 P,提高土壤中 P 的利用率和植株体内 P 积累。

土壤中无机态 N 主要以铵态 N 和硝态 N 存在。硝酸还原酶对植物硝态氮的同化有重要作用。而 Ruizloz-

ano 等^[24],王元贞等^[11]及贺忠群等^[25]试验表明,AMF 可提高植物体内硝酸还原酶活性。该试验也证实接种 AMF 后葡萄微繁苗的硝酸还原酶活性显著高于未接种的对照,说明 AMF 可能通过提高硝酸还原酶活性从而加强宿主植物 N 代谢的有效性及向宿主的运转。

3.4 AMF 对葡萄微繁苗生长势的影响

多数研究者一般将 AMF 的介入时间选择在微繁苗的驯化培育阶段,国内外许多研究的结果表明,此时接种 AMF 对试管苗的生长与养分吸收具有积极的促进作用,在提高微繁苗移栽成活率、加快驯化进程等方面十分有益^[26]。该试验通过观测接种 AMF 的葡萄微繁苗移栽后的生长效应,发现幼苗根系活力增强,根系对矿质营养的吸收以及叶片的光合能力提高,有利促进了幼苗的生长。

用 AMF 接种宿主植物微繁苗,可显著提高微繁苗移栽存活率及生物量,同时,可减少化学合成品的施用量^[27]。郭秀珍等^[14]及仲崇禄等^[28]试验证明,接种 AMF 能加强葡萄及巨尾桉微繁苗的光合作用,促进幼苗的生长发育。香蕉微繁苗在练苗期间接种不同的 AMF,都表现出较高的侵染率,缩短了缓苗期,提高了植株的生长势,明显增大香蕉微繁苗的叶面积、根和茎的鲜重、光合速率和呼吸速率^[29,30]。通过试验也发现,接种 AMF 后葡萄微繁苗的生长效应有极大提高,其叶绿素含量增加,提高了植株对光能的利用,使光合速率有显著提高,硝酸还原酶的活性、蛋白质含量以及碳水化合物含量的显著增加,反映葡萄微繁苗同化合成能力提高。统计各生长指标表明,接种 AMF 后,葡萄微繁苗干样质量增加,其中根系增加明显,植株根冠比增大。同时,菌根化微繁苗根茎增粗、叶片数增多。

参考文献

- [1] Finlay R D. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis; with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(5): 1115-1126.
- [2] 刘润进,李晓林.丛枝菌根及其应用[M].北京:科学出版社,2000:1-224.
- [3] Mukerji K G, Chamalo B P, Singh J. Mycorrhizal biology [M]. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2000: 1-336.
- [4] 弓明钦,陈应龙,仲崇禄.菌根研究及应用[M].北京:中国林业出版社,1997:1-216.
- [5] Karagiannidis N, Nikolaou N. Arbuscular mycorrhizal root infection as an important factor of grapevine nutrition status. Multivariate analysis application for evaluation and characterization of the soil and leaf parameters [J]. *Agrochimica* 1999, 43(3-4): 151-165.
- [6] Azcon-Aguilar G, Barea J M. Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials [J]. *Sci Horticulturae* 1997, 68: 1-24.
- [7] Phillips M, Hayman D S. Improved procedures for cleaning roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection [J]. *Transactions of British Mycological Society*, 1970, 55: 158-161.

[8] 鲍士旦.土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 1-495.

[9] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 1-191.

[10] 李合生. 植物生理生化实验原理与技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 1-278.

[11] 王元贞, 柯玉琴, 潘廷国. 不同类型菌根菌对烟草幼苗生理代谢的影响[J]. 应用生态学报, 2002, 13(1): 87-90.

[12] Tisserant B, Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S, et al. In planta histochemical staining of fungal alkaline phosphatase activity for analysis of efficient arbuscular mycorrhizal infection[J]. Mycological Research, 1993, 97(2): 245-250.

[13] 罗焕亮, 陈伟元, 邵志芳, 等. VA 菌根对植物的增效作用研究[J]. 华南农业大学学报, 2002, 23(1): 49-51.

[14] 郭秀珍, 李江山, 毕国昌. 泡囊丛枝(VA) 菌根真菌对葡萄组培苗的生长效应[J]. 园艺学报, 1988, 15(2): 77-81.

[15] Tommcrup I C. Spore domancy in vesicular arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Transactions of British Mycological Society, 1983, 81: 37-45.

[16] Harley J L, Smith S E. Mycorrhizal Symbiosis[M]. London: Academic Press Inc, 1983: 1-483.

[17] 姜德锋, 蒋家慧, 李敏, 等. AM 菌对玉米某些生理特性和子粒产量的影响[J]. 中国农业科学, 1998, 31(1): 15-20.

[18] 宋勇春, 李晓林, 冯固. 菌根真菌磷酸酶活性对三叶草生境中土壤有机磷亏缺的影响[J]. 生态学报, 2001, 21(7): 1130-1135.

[19] 宋勇春, 李晓林, 冯固. 泡囊丛枝(VA) 菌根对玉米根际磷酸酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2001, 12(4): 593-596.

[20] Dodd J C, Burton C C, Burns R G. Phosphatase activity associated with the roots and the rhizosphere of plants infected with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi[J]. New Phytologist, 1987, 107: 163-172.

[21] 李晓林, 冯固. 丛枝菌根生态生理[M]. 北京: 华文出版社, 2001: 1-358.

[22] Vidal M T, Azcon-Aguilar C, Barea J M. Mycorrhizal inoculation enhances growth and development of micropropagated plants of avocado[J]. HortScience, 1992, 27(7): 785-787.

[23] 徐辉, 张捷. 丛枝菌根真菌对植物生长影响的研究[J]. 植物研究, 2007, 27(5): 636-640.

[24] Ruizlozano J M, Azcon R. Mycorrhizal colonization and drought stress as facts affecting nitrate reductase activity in lettuce plants[J]. Agriculture Ecosystems & Environment, 1996, 60(2/3): 175-181.

[25] 贺忠群, 贺超兴, 张志斌, 等. 不同丛枝菌根真菌对番茄生长及相关生理因素的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2006, 37(3): 308-312.

[26] 王真辉. 菌根真菌在植物组培苗生产技术中的应用[J]. 热带农业科学, 2001(5): 71-78.

[27] Budi S W, Cordier C, Trouvelot A, et al. Arbuscular mycorrhiza as a way of promoting sustainable growth of micropropagated plants[J]. Acta Horticulturae, 1998, 457: 71-77.

[28] 仲崇禄, 弓明钦, 徐大平, 等. 巨尾桉瓶内菌根化组培苗的造林效应[J]. 林业科学研究, 2002, 15(2): 190-196.

[29] Yano Melo A M, Saggin O J, Lima J M. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on acclimatization of micropropagated banana plantlets[J]. Mycorrhiza, 1999, 9(2): 119-123.

[30] Arias F, Blanco F, Vargas R. Evaluation of infectivity of arbuscular mycorrhiza in micropropagated banana plants(Musa AAA. cv. Valery) during greenhouse and nursery phases[J]. CORBANA, 1999, 25(52): 173-188.

Study on the Effects of AMF on the Growth and Development of Micropropagated Grape Plantlets

XIE Li-yuan^{1,3}, ZHANG Yong^{2,3}, XIONG Bing-quan³, ZENG Ming³

(1. Soil and Fertilizer Research Institute Sichuan Academy of Agricultural Sciences Chengdu, Sichuan 610066; 2. School of Life Sciences and Technology, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu, Sichuan 610054; 3. College of Horticulture and Landscape Architecture Southwest University, Chongqing 400716)

Abstract: In this experiment, the effects of inoculation with AMF on the growth and acclimatization of micropropagated plants during *ex vitro* transfer were investigated. The results showed that AMF had importantly stimulative effects on micropropagated grape plantlets in *in vitro* and *ex vitro* condition. The activity of phosphatase in micropropagated grape plantlets root was distinctly enhanced by AMF infection, at the same time, there was significant correlation between the activity of phosphatase and AMF infection rate. Inoculation with the AMF improved formation of a well-developed root system that was converted into an AM system. Introduction of the AMF at the time plantlets were transferred from *in vitro* conditions to *ex vitro* conditions improved the absorbency of root, shoot and root growth, increased the root/shoot ratio and the content of N, P in plant tissues, promoted photosynthesis and growth potential, and helped plantlets to tolerate environmental stress at transplanting. Thus, AM formation was seemed to be the key factor for subsequent growth and development of micropropagated plantlets.

Key words: *vitis vinifera*; arbuscular mycorrhizal fungi; micropropagated plantlets; effects of growth