

丛枝菌根真菌菌剂制备研究进展

岳 辉, 刘 英

(西安科技大学 测绘科学与技术学院, 陕西 西安 710054)

摘 要:丛枝菌根真菌(AMF)能够增强植物对生物和非生物因素的抗压能力,在增加农作物产量和减少农药使用方面起到了重要作用,在园艺、农业、森林和环境修复方面发展潜力很大。现通过对菌剂制备系统的构成要素:菌根真菌、寄主植物、培养基质和营养方面,对丛枝菌根真菌菌剂制备进行了综述,指出未来菌剂市场的方向和前景。

关键词:丛枝菌根真菌;菌剂制备;研究进展

中图分类号:S 154.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)16-0179-05

菌根是普遍存在于地球陆地表面的植物与真菌的共生现象,其显著特征是营养物质的双向流动,即植物为丛枝菌根真菌提供糖,糖提供的能量帮助植物从土壤中获取矿物质元素^[1],分子钟表明迄今为止发现最早的球囊霉目丛枝菌根真菌距今约 4 亿年^[2]。经过千百年的进化,丛枝菌根-植物共生体在生态系统中起了重要作用,不但提高植物的生产力和生态多样性,而且增强植物对生物和非生物因素的抗压能力^[3]。非生物因素包括丛枝菌根-植物共生体,能够提高植物的抗旱性、抗盐性、抗重金属毒害性等^[4-6],以及目前研究较为成熟的丛枝菌根-植物共生体,通过外生菌丝改善矿质营养的吸收,促进土壤团聚体的形成^[7-8]。生物因素目前研究主要为丛枝菌根-植物共生体,通过提高与抗病相关酶的活性来提高植物的抗病虫害性^[9]。

当前,对丛枝菌根真菌研究的重点转移到农业、园艺、森林以及环境修复,比如用来增加农作物产量和减少农药的使用^[10]。然而,丛枝菌根真菌活体营养型和专性共生的特点使得采用高效大面积生产的方法来获取高质量的菌剂非常复杂,另一方面,菌根浸染效果在植物生产系统中的不稳定表现和使用者缺少必要的专业知识也使得菌剂在现阶段难以广泛使用^[11]。在最近的几十年中,菌剂制备的技术和方法已经有了长足的发展,现从其试验设计、商业化前景和应用领域推广等方面,将丛枝菌根真菌菌剂的制备系统分为传统的以沙

土/土壤为基质的生产系统、无基质培养系统和离体双重培养系统三大类,并总结其优点和约束条件,讨论了菌剂市场和菌剂质量控制标准,并展望了 AMF 菌剂的发展趋势,以便学者在前人的研究基础上深入探索出成熟的丛枝菌根真菌菌剂制备系统。

1 菌剂制备系统研究

1.1 基质培养系统

基质培养系统是目前研究中大面积高效生产丛枝菌根真菌菌剂的最主要方法之一。传统的菌根菌剂的制备是把植物和菌根同时接入土壤或者沙土基质中进行培养,由于基质载体可以影响到菌根的侵染效果,现在已经发展到采用一系列改良基质来培养菌剂。大规模生产菌剂所使用的容器通常包括盆罐、陶罐等,也可以使用中型塑料袋作为培养容器。菌剂生产过程一般在可以控制湿度和温度的温室或者人工培养箱中。然而,受大田和天气条件的影响,大规模的制备菌剂也可以在露天开放条件下,例如 DOUDS 等^[12]在野外露天条件下制备为农业生产所使用的菌剂,金海如^[13]在农田培养生产菌根真菌干菌剂肥料,生产的活体孢子数量达到 80~100 个/g。基质培养系统相对较低的成本和较稳定的产孢量(80~100 个/cm³)适合大规模生产,交叉污染和害虫防治是影响其质量控制的关键因素。

1.1.1 丛枝菌根真菌 在土壤或者沙土基质中进行菌剂培养通常选择一种菌根真菌,在露天开放条件下通常选择本地土著菌根真菌。为生产菌剂加入的接种体通常是菌根真菌分离出的孢子,或者经烘干和切碎的被菌根侵染的根段,含有菌根菌丝的土壤也可以加入到接菌体中,接菌体中的孢子通常是被确认的。国际上的菌种保藏组织,如 INVAM (国际 AM 真菌保藏中心)、BEG (欧洲 AM 真菌保藏中心)和 GINCO (加拿大 AM 真菌

第一作者简介:岳辉(1983-),男,博士,讲师,现主要从事环境修复等研究工作。E-mail:13720559861@163.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(41401496);西安科技大学培育基金资助项目(201306);西安科技大学博士启动金资助项目(2014QDJ061)。

收稿日期:2015-03-15

根器官繁殖中心),国内菌种资源库由北京市农林科学院建立(中国丛枝菌根真菌种质资源库,简称BGC),可以保证提供的接菌种是经过确认的单体菌根真菌,并且可以根据贮藏标码提供接菌种的详细来源。多种丛枝菌根被成功地应用在基质培养系统中,例如摩西球囊霉菌(*Glomus mosseae*)、白色球囊霉菌(*Glomus albidus*)和根内球囊酶(*Glomus intraradices*)均在野外露天条件下被制备并应用在矿区土地复垦中^[14-15]。

1.1.2 寄主植物 基质培养菌根菌剂常用洋葱(*Onion*)、韭菜(*Allium* spp.)、玉米(*Zea mays* L.)和百喜草(*Paspalum notatum* Flugge)作为大面积生产菌剂的寄主植物^[16-18]。使用上述植物作为寄主植物的原因在于它们的生命周期较短,有较强的根系系统,比较易被菌根真菌所侵染,并且可以忍受磷含量较低的土壤,以及对病原菌较低的敏感度和较广的温度适应范围^[20]。研究表明,依靠寄主植物来进行孢子繁殖的菌根真菌对寄主植物存在一定的选择性,GAUR等^[16]通过对5种饲料作物接种土著菌根真菌后发现,不同的寄主植物菌根侵染水平存在显著差异。不同菌剂类型的需要决定了寄主植物的选择,比如孢子和根段混合菌剂需要较高的菌根侵染率,但是单纯的孢子菌剂并不需要。DOUDS等^[17]报道过菌根侵染率和孢子形成之间的相关性,王倡宪等^[21]发现这种相关性受到不同的植物和菌根真菌共生体以及培养条件的影响。

1.1.3 基质 不同学者利用各种各样的基质扩繁和大规模生产菌根菌剂,其中SYLVIA等^[22]使用沙土作为培养基质来生产菌根菌剂;MILLNER等^[19]采用纯沙作为培养基质扩繁菌根菌剂;MA等^[23]采用较少的基质包括泥炭、玻璃念珠、蛭石、珍珠岩、堆肥和煅烧粘土等作为菌根菌剂生产的基质。据报道,有机质可以增加菌根真菌对植物的侵染率,相对惰性的基质,比如蛭石和珍珠岩可以用来稀释肥沃的土壤^[24-25];而有机质的基质,比如泥炭和堆肥可以加入到贫瘠的土壤中,GRYNDLER等^[24]报道过几丁质和腐殖质能够增加菌根侵染的水平,而纤维素会降低侵染水平。

1.1.4 营养 多种报道已经证实营养元素的使用会影响到菌根真菌的繁殖,但是现在还不清楚营养元素在多大程度上影响植物和菌根共生体的生长和发育,一般认为在菌根侵染初期,最优量的营养元素无疑会促进植物根系和菌根繁殖体的发育^[17]。通常,菌根真菌更适宜低磷含量的环境,MILLNER等^[19]报道过营养液中没有或者含有低水平的磷对菌根侵染植物根系和菌根孢子的萌发有益。BLANKE等^[26]认为在培养基质和植物组织内的N和P的比例是影响菌根侵染的发生和孢子形成的主要原因。全量或者半量的Hoagland营养液经常在菌剂培养中使用,有时会改变N和P的含量。MAR-

LEEN等^[11]认为营养元素的需要会随着时间的推移而发生变化,比如高水平含量的磷在初期会抑制菌根真菌的侵染,但是在后阶段添加磷会促进菌根的发育和孢子形成。

1.2 无基质培养系统

无基质培养系统也称作溶液培养技术,不同无基质培养系统的差别主要在于通风模式和营养溶液使用的不同。在溶液不流动的静态培养系统中,空气需要不断的被泵入营养溶液中用于防止根系缺氧,但是溶液会受到气流的强烈扰动,以及气泡的不断产生会损害细微的根外菌丝的发育。为了防止这样的问题,气泵必须周期性的打开使得对菌根的影响降到最小^[27]。ELMES等^[28]发明了营养液流动培养技术(NFT nutrient flow technique),这种技术将植物和菌根的共生体固定在营养液流动槽中,在根系上覆盖黑色薄膜增加了根系与空气交换的面积,这项技术至今在无基质培养中被广泛采用。除了传统的水培法外,也有学者采用气培法,这种方法是将植物的根系笼罩在营养液雾气中^[29]。营养液雾气增加了培养介质的通气性,气培法中不同的技术区别在于雾气液滴是如何产生的,JARSTFER等^[30]测试了3种气雾装置后认为微灌喷嘴加压喷雾更适合于菌根真菌的培养。MOHAMMAD等^[31]将雾化皿装置和能够产生直径1 μm 液滴的超声波雾化技术做了对比后认为超声波雾化技术是用苏丹草(*S. sudanese* Staph.)生产根内球囊霉(*G. intraradices*)菌剂的最佳气培方法。

1.2.1 丛枝菌根真菌 多种球囊霉属(*Glomus*)的菌根真菌均被成功的应用在无基质培养菌根菌剂的生产中。例如根内球囊霉(*G. intraradices*)、摩西球囊霉(*G. mosseae*)、聚球囊霉(*G. fasciculatum*)和苏格兰球囊霉(*G. caledonium*)^[32-35]。

1.2.2 寄主植物 无基质培养菌根菌剂使用的寄主植物和基质培养类似,JARSTFER等^[30]建议采用小麦(*Triticum aestivum* L.)和亚麻(*Linum usitatissimum* L.)作为静态培养系统的寄主植物。ELMES等^[28]采用玉米(*Z. mays*)作为NFT系统的寄主植物。百喜草(*P. notatum* Flugge)、苏丹草(*S. sudanese* Staph.)和甘薯(*Ipomoea batatas* L.)也被使用在气培法培养菌根菌剂中。

1.2.3 营养 大多数无基质培养的方法都是采用稀释或者改进现有营养液。比如Knop、Hoagland和Long Ashton营养液。多数学者认为营养液中的P含量至关重要,一般是采用低水平含量的磷。HAWKINS等^[36]报道使用P含量为10 $\mu\text{mol/L}$ 的Long Ashton营养液能够让小麦和摩西球囊酶共生体达到较高的侵染率。TAJINI等^[37]在营养液中加入Fe元素用来防止萎黄病的发生,而Mo元素也被认为是菌根生长发育所需的必要元素之一。

1.3 离体双重培养系统

最早的离体双重培养系统的尝试可以追溯到 20 世纪 50 年代, MOSSE^[38] 早在 1962 年首次报道了内囊霉属 (*Endogone*) 菌根真菌的离体根双重培养试验。1975 年, MOSSE 等^[39] 成功的在凝胶介质上建立了丛枝菌根真菌和番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill) 离体双重培养系统。MUGNIER 等^[40] 和 BÉCARD 等^[41] 分别在 1987 年和 1988 年首次采用 Ri T-DNA 转型胡萝卜根和丛枝菌根真菌建立双重培养体系。为了方便快速的获得丛枝菌根真菌和增加孢子产量, ST-ARNAUD 等^[42] 在 1996 年报道中采用了分室培养系统, 即在植物根室 (近室) 和菌丝室 (远室) 采用这种分室培养系统, DOUDS^[43] 在菌丝室 (远室) 改进培养基, 在根室 (近室) 补加葡萄糖, 这样可以在远室培养皿中重复获得大量孢子。CHEN 等^[44] 2001 年建立了以玻璃珠为培养基质的三分室培养方法, 将菌根真菌接种剂与砂土混匀装入培养容器的植物生长室, 而后自区隔壁浇水, 将宿主植物种子播种、培养, 回收真菌孢子和菌丝体。VOETS 等^[45] 在 2005 年建立了无机营养培养系统, 这种系统将马铃薯植株放在培养皿外生长, 而植株根系和根内球囊霉 (*G. intraradices*) 在培养皿基质中发育, 尽管这种方法易于被污染, 但是适合产生大量孢子, 在 22 周后每个培养皿可以得到 12 000 个孢子。

1.3.1 丛枝菌根真菌 多种不同菌株被应用在离体双重培养系统中, 多为球囊霉科 (Glomeraceae) 和巨孢囊霉科 (Gigasporaceae)。应用在宿主 Ri T-DNA 转型胡萝卜根上的有摩西球囊霉 (*G. mosseae*)、根内球囊霉 (*G. intraradices*)、地表球囊霉 (*G. versiforme*)、珠状巨孢囊霉 (*G. gaspora margarita*)、巨大巨孢囊霉 (*Gigaspora gigantea*) 等^[46-47]。

1.3.2 寄主植物 离体双重培养系统开始于采用胡萝卜根 (*Daucus carota* L.) 作为寄主植物, 最近菊苣 (*Cichorium intybus* L.) 和蒺藜苜蓿 (*Medicago truncatula* Gaertn.) 也被成功的应用在丛枝菌根真菌菌剂培养中^[48]。

1.3.3 培养基 在离体双重培养中经常用到的培养基有 2 种: 一种是 BÉCARD 等^[49] 提出的 M 培养基 (M-medium), 另一种是 STRULLU 等^[50] 提出的 Strullu Romand (MSR) 培养基, 此培养基在 1998 年被 DECLERCK 等^[51] 改进。上述 2 种培养基都含有微量元素和大量营养物质, 以及维生素和蔗糖, 均由凝胶剂凝固。在全植物离体培养中, 例如无机营养培养系统中, 维生素和蔗糖不是必需的添加物, 因为植物可以依靠光合作用和新陈代谢来获取生长发育所需的维生素和蔗糖。

2 菌剂推广研究

2.1 菌剂推广应用和建立菌剂市场

经过几十年的发展, 丛枝菌根真菌菌剂的制备已经

逐渐从实验室拓展到野外大田应用中。目前国际上已经有 10~20 个公司开始生产菌剂, 例如: 英国 PlantWorks、捷克 Symbio-m、德国 INOQ、瑞士 MYCOSYM、西班牙 SYTEN、法国 Biorize、北美 Premiere Tech 等, 这些公司根据不同的市场需求生产单一或者混合的菌剂产品, 菌剂产品类型包括由泥炭、蛭石、堆肥和沙子制成的颗粒状剂、药片或者玻璃凝胶。菌剂产品种类通常包含一种或多种菌根真菌, 目前使用最较多的是球囊霉属 (*Glomus*), 而根内球囊霉 (*G. intraradices*) 是使用最多的一种菌根真菌。

菌剂市场的建立需要菌剂产品能够解决消费者的需求, MIROSLAV 等^[52] 归纳了菌剂能够满足全球市场需求的独特卖点: 降低植物死亡率、减少植物后期养护、增加土壤稳定性、增加植物对磷和微量元素的吸收、增加植物对土壤中病原体的抵抗力、增强植物在污染区的耐受力等。目前, 菌剂已存在和潜在的市场包括: 园艺、森林、农业和环境修复工程。近年来, AMF 增加土壤碳固持和降低大气温室气体浓度成为新的研究热点, 成为碳交易市场的巨大商业潜力^[53]。

2.2 菌剂质量控制标准

菌剂市场成熟的一个重要标志是有相应的质量控制标准。然而, 遗憾的是目前监测菌剂的质量控制标准仍未建立。尽管有学者报道了质量控制标准的建立方法和重要性, 但目前监测菌剂数量应用最多的是用最大或然数计数方法 (MPN), 但是 MPN 值并不能代表实际菌落数, DOUDS 等^[17] 报道过 MPN 会低估实际的菌落数, 同时侵染植物的病原体也会影响到实际的菌剂菌落数。LIU 等^[54] 报道了一种新的监测菌剂数量的方法接种势 (IP), 但是这种方法应用较少。国内目前采用的标准多为《农用微生物菌剂 (GB 20287-2006)》。随着分子生物学的兴起, 尤其是分子示踪技术, 能够定量和定性的描述菌根在土壤和植物根系中的分布, 但是这种技术仅仅在部分菌根真菌中被使用^[55]。近年来, PCR 及其衍生技术的引入, 使植物根内 AMF 鉴定和监测成为可能。目前, 应用较多的技术包括: Nested-PCR、PCR-RFLP、PCR-T-RFLP、PCR-DGGE/TGGE、PCR-SSCP 等。虽然分子生物学技术能够快速准确的鉴定 AMF 和在菌根水平上证明菌株的作用, 但是成本高、试验条件要求高等限制因素也制约了其在菌剂质量控制中的广泛应用。

3 结论与讨论

丛枝菌根真菌被认为是专性共生体, 即 AM 菌根真菌必须侵染植物根系去完成它的生命周期和孢子繁殖过程。只有根内侵染过程才能让 AM 菌根吸收到发育所需要的己糖和完成某些特定的代谢过程, 比如脂合成等。因此在离体培养条件下 AM 菌根无法产生孢子繁

殖体,这就给大规模制备菌根真菌菌剂造成了极大的先天困难。另外,从德国植物生理学和森林学家 Frank 首先发现 AMF 到现在已经过去 126 年,菌根真菌的研究也已从形态学发展到了分子生物学,然而对于 AMF 的生态生理机理仍然了解甚少,这在一定程度上也制约了 AMF 菌剂的推广和应用。其次,虽然经过几十年的演变,丛枝菌根真菌菌剂的制备方法已经逐渐从实验室拓展到野外大田应用中。但是从应用到大田产生效果与菌根菌剂相紧密联系起来仍然较为困难,主要障碍是质量控制,目前没有一个明确的质量控制标准,这也制约了菌剂市场的发展和成熟。

菌剂从实验室进入到大田应用仍处于探索阶段,仍有许多需要亟待解决的问题,但未来发展的前景仍然乐观。课题组总结了未来可能的发展方向,一是从菌剂制备和推广应用市场来看,微生物复合菌剂是未来 AMF 菌剂发展的趋势之一。比如,不同组合的根际有益微生物对植物生长和发育的作用需要进一步试验摸索,接菌时间和不同根际微生物之间的相互作用需要得到更多的了解。二是随着分子生物学技术的发展,分子生物技术会在很大程度上解决提高菌剂在制备中遇到的问题,比如丛枝菌根-植物共生体共生机制的阐明将为 AMF 菌剂纯培养提供理论依据。三是在菌剂制备和应用,包括菌剂市场中运用法制监管也将是未来发展的趋势之一。相信广大学者的共同努力下,丛枝菌根真菌菌剂会有更大更好的发展前景。

参考文献

- [1] SMITH S E, BARKER S J. Plant phosphate transporter genes help harnesses the nutritional benefits of arbuscular mycorrhizal symbiosis[J]. Trends Plant Sci, 2002, 75: 189-190.
- [2] SIMON L, BOUSQUET J, LÉVESQUE R C, et al. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular plants[J]. Nature, 1993, 363: 67-69.
- [3] SMITH S E, READ D J. Mycorrhizal symbiosis[M]. London: Academic, 2008.
- [4] 王倡亮, 李晓林, 宋福强, 等. 两种丛枝菌根真菌对黄瓜苗期枯萎病的防效及根系抗病相关酶活性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2012, 20(1): 53-57.
- [5] 宰学明, 夏连全, 闫道良, 等. 丛枝菌根真菌对滨海扦插苗生根、生长和抗病相关酶活性的影响[J]. 广西植物, 2011, 31(3): 393-397.
- [6] 叶佳舒, 李涛, 胡亚军, 等. 干旱条件下 AM 真菌对植物生长和土壤水稳定性团聚体的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(4): 1080-1090.
- [7] 毕银丽. 丛枝菌根培养新技术及其对土地复垦生态效应[M]. 北京: 地质出版社, 2007.
- [8] 毕银丽, 冯广达, 刘榕榕, 等. 微生物对煤系固体废弃物淋滤液污染性影响[J]. 环境科学与技术, 2009, 32(9): 17-21.
- [9] XI J M, ZHAO H L, JIAN H C. Ecological risk assessment of open coal mine area[J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2008, 147(1-3): 471-481.
- [10] JOHANSSON J F, PAUL L R, FINLAY R D. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2004, 48: 1-13.
- [11] MARLEEN I, SYLVIE C, STÉPHANE DECLERCK. Methods for large-scale production of AM fungi: past, present, and future[J]. Mycorrhiza, 2011, 21: 1-16.
- [12] DOUDS D D J, NAGAHASHI G, PFEFFER P E, et al. On-farm production and utilization of arbuscular mycorrhizal fungus inoculum[J]. Can J Plant Sci, 2005, 85: 15-21.
- [13] 金海如. 农田就地培养生产丛枝菌根真菌生物菌剂肥料的方法[P]. 中国: CN101805216A, 2010. 03. 29.
- [14] 岳辉, 毕银丽, 刘英. 神东矿区采煤沉陷地微生物复垦动态监测与生态效应[J]. 科技导报, 2012, 30(24): 33-37.
- [15] 岳辉, 毕银丽, ZHAKYPBEK Y, 等. 接种菌根对神东矿区采煤沉陷地生态修复效应[J]. 科技导报, 2012, 30(36): 56-60.
- [16] GAUR A, ADHOLEYA. Arbuscular-mycorrhizal inoculation of five tropical fodder crops and inoculum production in marginal soil amended with organic matter[J]. Biol Fertil Soils, 2002, 35: 214-218.
- [17] DOUDS D D J, NAGAHASHI G, PFEFFER P E, et al. On-farm production of AM fungus inoculum in mixtures of compost and vermiculite[J]. Biores Tech, 2006, 97: 809-818.
- [18] GAUR A, ADHOLEYA A. Effects of the particle size of soil-less substrates upon AM fungus inoculum production[J]. Mycorrhiza, 2000(10): 43-48.
- [19] MILLNER P D, KITT D G. The Beltsville method for soilless production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Mycorrhiza, 1992(2): 9-15.
- [20] HART M M, READER R J. Does percent root length colonization and soil hyphal length reflect the extent of colonization for all AMF[J]. Mycorrhiza, 2002, 12: 297-301.
- [21] 王倡亮, 秦岭, 冯固, 等. 三种丛枝菌根真菌对黄瓜幼苗生长的影响[J]. 农业环境科学学报, 2003, 22(3): 301-303.
- [22] SYLVIA D M, SCHENCK N C. Application of superphosphate to mycorrhizal plants stimulates sporulation of phosphorustolerant vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi[J]. New Phytol, 1983, 95: 655-661.
- [23] MA N, YOKOYAMA K, MARUMOTO T. Effect of peat on mycorrhizal colonization and effectiveness of the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita*[J]. Soil Sci Plant Nutr, 2007, 53: 744-752.
- [24] GRYNLER M, HRŠELOVÁ H, SUDOVÁ R, et al. Hyphal growth and mycorrhiza formation by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus claroidium* BEG23 is stimulated by humic substances[J]. Mycorrhiza, 2005, 15: 483-488.
- [25] 王幼珊, 刘相梅, 张美庆, 等. 盆栽基质及营养液对 AM 真菌接种剂繁殖的影响[J]. 华北农学报, 2001, 16(4): 81-86.
- [26] BLANKE V, RENKER C, WAGNER M, et al. Nitrogen supply affects arbuscular mycorrhizal colonization of *Artemisia vulgaris* in a phosphate-polluted field site[J]. New Phytol, 2005, 166: 981-992.
- [27] HAWKINS H J, GEORGE E. Hydroponic culture of the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* with *Linum usitatissimum* L., *Sorghumbicolor* L. and *Triticum aestivum* L. [J]. Plant Soil, 1997, 196: 143-149.
- [28] ELMES R P, MOSSE B. Vesicular-arbuscular endomycorrhizal inoculum production II Experiments with maize (*Zea mays*) and other hosts in nutrient flow culture[J]. Can J Bot, 1984, 62: 1531-1536.
- [29] ZOBEL R W, DEL TREDICI P, TORREY J G. Method for growing plants aeroponically[J]. Plant Physiol, 1976, 57: 344-346.
- [30] JARSTFER A G, SYLVIA D M. Mycorrhiza[M]. Heidelberg: Springer, 1995.
- [31] MOHAMMAD A, KHAN A G, KUEK C. Improved aeroponic culture of inocula of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Mycorrhiza, 2000, 9: 337-339.

- [32] DUGASSA D G, GRUNEWALDT-STÖCKER G, SCHÖNBECK F. Growth of *Glomus intraradices* and its effect on linseed (*Linum usitatissimum* L.) in hydroponic culture[J]. Mycorrhiza, 1995, 5: 279-282.
- [33] TAJINI F, SURIYAKUP P, VAILHE H, et al. Assess suitability of hydroaerobic culture to establish tripartite symbiosis between different AMF species, beans and rhizobia[J]. BMC Plant Biol, 2009, 9: 73.
- [34] HUNG L L, SYLVIA D M. Production of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus inoculum in aeroponic culture[J]. Appl Environ Microbiol, 1988, 54: 353-357.
- [35] WU C G, LIU Y S, HUNG L L. Spore development of *Entrophospora kentinensis* in an aeroponic system[J]. Mycologia, 1995, 87: 582-587.
- [36] HAWKINS H J, GEORGE E. Hydroponic culture of the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* with *Linum usitatissimum* L., *Sorghum bicolor* L. and *Triticum aestivum* L. [J]. Plant Soil, 1997, 196: 143-149.
- [37] TAJINI F, SURIYAKUP P, VAILHE H, et al. Assess suitability of hydroaerobic culture to establish tripartite symbiosis between different AMF species, beans, and rhizobia[J]. BMC Plant Biol, 2009, 9: 73.
- [38] MOSSE B. The establishment of vesicular-arbuscular mycorrhiza under aseptic conditions[J]. J Gen Microbiol, 1962, 27: 509-520.
- [39] MOSSE B, HEPPEL C M. Vesicular-arbuscular infections in root-organ cultures[J]. Physiol Plant Pathol, 1975, 5: 215-233.
- [40] MUGNIER J, MOSSE B. Vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in transformed root-inducing T-DNA roots grown axenically[J]. Phytopathology, 1987, 77: 1045-1050.
- [41] BÉCARD G, FORTIN J A. Early events of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation on Ri T-DNA transformed roots[J]. New Phytol, 1988, 108: 211-218.
- [42] ST-ARNAUD M, HAMEL C, VIMARD B, et al. Enhanced hyphal growth and spore production of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* in an *in vitro* system in the absence of host roots[J]. Mycol Res, 1996, 100: 328-332.
- [43] DOUDS D D J. Increased spore production by *Glomus intraradices* in the split-plate monoxenic culture system by repeated harvest, gel replacement and resupply of glucose to the mycorrhiza[J]. Mycorrhiza, 2002, 12: 163-167.
- [44] CHEN B D, CHRISTIE P, LI X L. A modified glass bead compartment cultivation system for the study of nutrient uptake by arbuscular mycorrhizae [J]. Chemosphere, 2001, 42: 185-192.
- [45] VOETS L, DUPRÉDE BOULOIS H, RENARCL L, et al. Development of an autotrophic culture system for the *in vitro* mycorrhization of potato plantlets[J]. FEMS Microbiol Lett, 2005, 248: 111-118.
- [46] 毕银丽, 汪洪钢, 李晓林. VA 菌根真菌对转移 Ri T-DNA 胡萝卜根器官的侵染[J]. 植物营养与肥料学报, 1999, 5(1): 76-80.
- [47] 毕银丽, 汪洪钢, 李晓林. 丛枝菌根的双重培养方法及其菌丝际的建立[J]. 菌物系统, 2000, 19(4): 517-521.
- [48] FONTAINE J, GRANDMOUGIN-FERJANI A, GLORIAN V, et al. 24-Methylmethylen sterols increase in monoxenic roots after colonization by arbuscular mycorrhizal fungi[J]. New Phytol, 2004, 163: 159-167.
- [49] BÉCARD G, FORTIN J A. Early events of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation on Ri T-DNA transformed roots[J]. New Phytol, 1988, 108: 211-218.
- [50] STRULLU D G, ROMAND C. Méthode d'obtention d'endomycorhizes à vésicules et arbuscules en conditions axéniques[J]. Comptes Rendus de l'Académie Des Sciences, 1986, 303: 245-250.
- [51] DECLERCK S, STULLU D G, PLENCHETTE C. Monoxenic culture of the intraradical forms of *Glomus* sp. isolated from a tropical ecosystem: a proposed methodology for germplasm collection[J]. Mycologia, 1998, 90: 579-585.
- [52] MIROSLAV V, MIROSLAV V, ALBRECHTOVÁ J, et al. The international market development for mycorrhizal technology. In: A. varma, ed. Mycorrhiza state of the art, Genetics and Molecular Biology, Eco-Function, Biotechnology, Eco-Physiology, Structure and Systematics[M]. Heidelberg: Springer, 2008: 419-438.
- [53] JAKOBSEN I, SMITH S E, SMITH F A. Function and diversity of arbuscular mycorrhizae in carbon and mineral nutrition [J]. Mycorrhizal Ecology Study, 2002, 157: 75-92.
- [54] LIU R J, LUO X S. A new method to quantify the inoculum potential of an arbuscular mycorrhizal fungi[J]. New Phytol, 1994, 128: 89-92.
- [55] ALKAN N, GADKAR V, YARDEN O, et al. Analysis of quantitative interactions between two species of arbuscular mycorrhizal fungi, *Glomus mosseae* and *G. intraradices* by realtime PCR[J]. Appl Environ Microbiol, 2006, 72: 4192-4199.

Research Progress on Preparation of Arbuscular Mycorrhizal Fungi Inoculant

YUE Hui, LIU Ying

(College of Geomatics, Xi'an University of Science and Technology, Xi'an, Shaanxi 710054)

Abstract: Arbuscular mycorrhizal fungi can enhance compressive capacity of plant for biological and non-biological factors in increasing crop yield and reducing pesticide use. It also plays an important role in terms of gardening, farming, forest and environment restoration. This article through to bacterium agent preparation system components mycorrhizal fungi, host plants, cultivating matrix and nutrition of arbuscular mycorrhizal fungi, bacteria agent preparation, summarized and pointed out the direction and future of arbuscular mycorrhizal fungi inoculant market in the future.

Keywords: arbuscular mycorrhizal fungi; inoculant; research progress