

# DB23

黑 龙 江 省 地 方 标 准

DB23/T 3572—2023

## 丛枝菌根真菌黑土田间接种技术规程

地方标准信息服务平台

2023-08-28 发布

2023-09-27 实施

黑龙江省市场监督管理局 发布

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由黑龙江省农业农村厅提出。

本文件起草单位：黑龙江省黑土保护利用研究院、哈尔滨芮焯科技有限公司、黑龙江国宏节能环保有限公司、黑龙江省农业环境与耕地保护站、黑龙江省农业科学院和黑龙江省知识产权保护中心。

本文件主要起草人：王爽、孙磊、赵文博、刘建生、马云桥、刘国辉，刘媛媛，金品娇、章圣龙、王伟、高中超、李伟群、姜举娟、王康康。

地方标准信息服务平台

# 丛枝菌根真菌黑土田间接种技术规程

## 1 范围

本文件规定了丛枝菌根真菌的获取、丛枝菌根真菌菌剂的制备、菌剂黑土田间接种和生产档案。本文件适用于丛枝菌根真菌黑土田间接种。

## 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB 20287 农用微生物菌剂

NY/T 1121.1 土壤检测 第1部分：土壤样品的采集、处理和贮存

NY/T 1536 微生物肥料田间试验技术规程及肥效评价指南

## 3 术语和定义

本文件没有界定的术语和定义。

## 4 丛枝菌根真菌的获取

### 4.1 第三方获取

应在经认证的丛枝菌根真菌种质资源库或保藏中心获取。

### 4.2 自行分离

#### 4.2.1 野外样品采集与处理

应在秋季收获前采样，用经酒精消毒后的采样工具沿宿主植物周围将完整根系挖出，根系及携带土壤放入无菌袋中；根围土壤采集方法按照 NY/T 1121.1 的规定执行。

#### 4.2.2 丛枝菌根真菌菌种的分离与保存

土壤中 AM 真菌孢子的分离提取采用湿筛倾析法。将采集的土壤样品混匀，称取 100 g 放入容器中，清水浸泡 20 min ~ 30 min；用孔径 500  $\mu\text{m}$  ~ 38  $\mu\text{m}$  洁净的土壤筛分层重叠放置，小孔径在最底层，并使筛面适当倾斜；用玻璃棒搅拌土壤浸泡液，停放后待大的石砾或杂物沉积在容器底部，将上层的土壤悬浮液缓慢倒入最上层的土壤筛内，以集中在一小范围内倾倒入为宜；用清水继续冲洗各筛面的筛出物，直至无土壤微粒为止；用清洁的洗瓶分别将各筛面上之后的筛出物轻轻地洗入洁净的培养皿内，在体式显微镜下用吸管分别将相同形态的孢子逐个移入小玻璃瓶内，或放在滤纸上。

在体视显微镜下，将湿筛分离出的外表健康的孢子转移至盛无菌蒸馏水的表面皿中，去除所有菌丝和碎屑后于4℃至少存放48 h，检查以挑出变色、有斑、过度透明或表面长菌的异常孢子。换水后，再将孢子贮存于4℃下24 h~48 h再观察并挑选，去掉异常孢子，然后水洗并转移至放有无菌蒸馏水的螺旋口塑料小瓶中做短期保存（不超过30 d）

## 5 丛枝菌根真菌菌剂制备

### 5.1 接种物准备

称取预扩繁菌种样品10 g~20 g，或在体视显微镜下挑取预扩繁菌种的孢子50个~200个，备用。

### 5.2 接种材料准备

#### 5.2.1 培养基质

灭菌的沸沙培养基质，即饲用沸石粉和粒径小于2 mm的河沙按1:1混合，装布袋，0.1 MPa蒸汽灭菌1 h~2 h两次，中间间隔24 h，然后防治1周~2周后使用。

#### 5.2.2 无菌培养钵

培养钵用10%次氯酸钠溶液浸泡30 min，无菌水清洗，淋干；或者用75%酒精浸泡或擦拭。

#### 5.2.3 宿主植物种子

用0.5%的高锰酸钾溶液浸泡宿主植物种子1 h，再用无菌蒸馏水冲洗干净。

#### 5.2.4 无土栽培营养液

选用Hoagland营养液，营养液配方见附录A。

### 5.3 培养条件

在人工气候室或者日光温室进行，温度控制在20℃~30℃，湿度保持在60%~80%，光照时长10 h~12 h。

### 5.4 接种方法与培养过程

装灭菌的沸沙培养基质置于培养钵的2/3处，将上述备用接种剂在基质上均匀平铺，接种量为基质质量的3%~5%，或者将上述孢子均匀滴放在基质上，再覆灭菌基质2 cm，均匀播种宿主植物种子，覆盖0.5 cm厚的灭菌基质。适量浇水，每周浇一次Hoagland营养液，然后移至人工气候室或日光温室培养至成熟期。

### 5.5 菌剂制备

收获时剪去宿主植物地上部分茎叶，将盆置于温度20℃~30℃，湿度为30%~50%的房间内干燥约1周~2周，然后收获钵中所有培养物（包括植物根、菌丝、孢子和基质），剪成3 cm~5 cm根段与基质混匀，制备成单一丛枝菌根真菌菌剂。

## 6 菌剂黑土田间接种

### 6.1 混播接种

大田作物接种菌剂用量为 $3\text{ t/hm}^2 \sim 6\text{ t/hm}^2$ ，与植物种子混合施入，也可先底施菌剂后播种。

### 6.2 菌根接种

高附加值的园艺作物、药用植物等，先将种子种植于含有菌剂的盆钵内或苗床上，菌剂接种量为土壤或苗床基质质量的 $3\% \sim 5\%$ ，再移栽到大田。

### 6.3 穴施接种

蔬菜等经济作物，采用穴施，每穴接种量 $10\text{ g}$ 左右，种子播种于菌剂上。

## 7 生产档案

应建立生产档案，内容包括：丛枝菌根真菌的获取、丛枝菌根真菌菌剂制备和菌剂黑土田间接种等。

地方标准信息服务平台

附录A  
(资料性)  
无土栽培营养液

A.1 Hoagland营养液

Hoagland营养液的配置方法见表A.1, 用无菌蒸馏水将各成分配置成贮存液保存。

表 A.1 Hoagland营养液配方

种类	成分	贮存液浓度 (g/L)	营养液浓度 (ml/L)
大量元素	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	236.16	4.0
	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	246.48	1.0
	KNO <sub>3</sub>	101.10	6.0
	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	115.08	2.0
微量元素	KCl	1.864	2.0
	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.777	2.0
	MnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0.169	2.0
	ZnSO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	0.288	2.0
	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.062	2.0
	H <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> (85 % Mo <sub>3</sub> )	0.040	2.0
	NaFeDTPA (10 % Fe)	30.0	0.3 ~ 1.0
水	无菌蒸馏水		
营养液pH	用HCl调节至6.0		

地方标准信息服务平台