

外生菌根研究及应用的回顾与展望

于富强, 刘培贵*

(中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204)

摘要: 简要回顾了一百多年来外生菌根研究史; 综述了外生菌根资源调查、分类鉴定、生态、生理、分子生物学以及生物技术研究与应用诸方面的阶段性成果和进展。通过对外生菌根研究与应用现状的归纳与分析, 就我国菌根研究与应用等方面存在的主要问题提出了以下 4 点建议: 1. 加强菌根资源的系统调查; 确认对应植物属种, 进行编目与建立数据库以及菌根 DNA 文库。2. 采集与收集菌根真菌, 进行分离、培养、繁育与保藏, 建立菌根真菌菌种库和 DNA 文库。3. 加强菌根技术研究, 侧重研究造林树种菌根化育苗和造林的新技术、新工艺。4. 改革传统的育苗与造林的方式、方法, 选育对应的优良菌根真菌菌株应用于育苗造林; 制定相关的政策、法规以规范和推广菌根技术。

关键词: 外生菌根; 综述; 问题与建议

Reviews and Prospects of the Ectomycorrhizal Research and Application

YU Fu-Qiang, LIU Pei-Gui (Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(12): 2217~2225.

Abstract: The history of studies on the ectomycorrhiza in the past century is briefly reviewed in this paper, with emphasis on investigations in ectomycorrhizal resources, identification and taxonomy, ecology, physiology, molecular biology, and biotechnology.

(1) Ectomycorrhizal resource investigation. It is evident that numerous fungi and plants form a wide diversity of ectomycorrhizal association. Representatives of such diverse plant families are the Pinaceae, Cupressaceae, Salicaceae, Betulaceae and Fagaceae. China is extraordinarily rich in ectomycorrhizal resources; much work has been done to examine ectomycorrhizal association from the standpoint of the fungal taxonomic relationships in the past 30 years, especially ectomycorrhizal fungi associated with Pinaceae. However, there is still much to be done to make further investigation of ectomycorrhizal fungi associated with various plant species. (2) Ectomycorrhiza identification and taxonomy. By traditional methods, ectomycorrhiza is mainly confirmed by morphological and anatomical characters of ectomycorrhizal fungi. With the progress of ectomycorrhiza research, physiological, ecological and molecular biological characters are used to provide more comprehensive datasets for ectomycorrhiza classification. (3) Ecology and physiology of ectomycorrhiza. Most vascular plants including nearly all conifers establish symbiotic relationship with soil-borne, root-colonizing, ectomycorrhizal fungi. Mycorrhiza improve the survival and growth of trees by enhancing uptake of nutrients and water, lengthening the root life span, protecting the root system against soil-borne pathogens and increasing tolerance to adverse condition. It plays an important role in stabilization and development of the whole ecological system. (4) Ectomycorrhiza molecular biology. With the development of molecular techniques, basic studies of ectomycorrhiza will be advanced through tools of DNA techniques, Isoenzyme techniques and Hybridoma techniques. All of these studies will lead to enhanced understanding and utilization of these potential valuable biological resources. Now, practical use of ectomycorrhizal fungi can be of great significance in tree species introduction, seedling mycorrhizalization, inhibition of plant pathogen, and production of edible ectomycorrhizal fungi.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30070004); 云南省自然科学基金资助项目(2000C0068M)

美国芝加哥费尔德博物院植物系文军博士、中国科学院微生物研究所姚一建博士及蒋毅女士、中国科学院昆明植物研究所王向华女士对本研究给予帮助; 中国林科院热带林业研究所弓明钦教授提供资料, 在此一并致谢

收稿日期: 2001-07-03; 修订日期: 2002-07-28

作者简介: 于富强(1965-), 男, 山东人, 硕士。主要从事真菌分类、菌根及资源学研究。

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: zws049@public.km.yn.cn

Based on the current situation, suggestions are made to improve the research and utilization of ectomycorrhiza in China as follows: (1) the ectomycorrhizal resources should be further investigated. It is necessary to confirm ectomycorrhizal fungi with corresponding plants, to make a list and set up a database as well as a DNA library. (2) It is important for the ectomycorrhizal research and utilization in the future to collect, isolate, and conserve ectomycorrhizal fungi, to set up a data bank for fungi strains and DNAs. (3) Science and technology on plantation and seedling mycorrhizalization should be enhanced. (4) It is essential to improve the traditional methods of seedling growth and plantation, to select associated ectomycorrhizal fungi strains, to regularize and improve corresponding mycorrhizal techniques.

Key words: ectomycorrhiza; review; questions and suggestions

文章编号:1000-0933(2002)12-2217-09 中图分类号:Q143 文献标识码:A

菌根 (Mycorrhiza) 是真菌与植物根形成的具有特定形态结构和功能的共生体,是自然界中普遍存在的一种共生现象^[1]。若以德国植物生理学家 Frank 首次用 Mycorrhiza 来描述一些树种的根与一些真菌形成的联合体为起点,菌根研究至今已有 116 年的历史。菌根一般分为两种主要类型:外生菌根 (Ectomycorrhiza) 和内生菌根 (Endomycorrhiza)。现趋向于分为外生菌根、内生菌根和内外生菌根 (Ectendomycorrhiza) 以及一些次要类型。外生菌根是菌根真菌菌丝体侵染宿主植物尚未木栓化的营养根形成的,其主要特征是菌丝在植物营养幼根表面形成菌套 (Mantle),同时侵入到根的皮层组织细胞间隙形成哈蒂氏网 (Hartig net),但不侵入细胞内部^[1]。由于外生菌根在生物学研究、生态系统稳定、生态安全及社会经济发展等方面表现出了巨大的研究价值和作用,越来越受到人们的关注,外生菌根分类学、生态学、生理学、分子生物学以及相关研究与应用技术等都得到了不同程度的发展。

1 外生菌根调查

对外生菌根的研究始于对这一现象的描述和调查。据不完全统计,形成外生菌根的植物主要限于种子植物中的乔灌木,约占世界 30 多万种维管植物的 10%,主要为松科 (Pinaceae)、柏科 (Cupressaceae)、杨柳科 (Salicaceae)、桦木科 (Betulaceae)、壳斗科 (Fagaceae) 等 34 科百余属植物^[2]。据统计,高等真菌有 10 目、30 科、81 属、535 种可与 280 种树木形成外生菌根,不同的树种与真菌的共生组合估计可达 1500 种以上^[3]。就外生菌根资源多样性进行的调查研究,主要集中在不同的自然地理区域、植被类型和生态环境下^[4~13]。

我国外生菌根资源调查研究起步较晚,但进展较快,如对滇西北高山针叶林区主要林型下外生菌根的分布调查,在 7 种主要林型下,发生外生菌根真菌 16 科、32 属、149 种,其中紫晶蜡蘑 (*Laccaria amethystea*)、彩色豆马勃 (*Pisolithus tinctorius*)、乳牛肝菌 (*Suillus bovinus*)、点柄乳牛肝菌 (*S. granulatus*) 等为各种林型和生境下的常见种^[14~16]。作者也针对云南省境内的云南松林展开了普遍的踏查,迄今为止,初步调查统计结果表明,仅大型高等真菌就有 19 科、38 属、170 余种与云南松形成外生菌根;另有 14 科、25 属、60 余种可能与云南松具外生菌根关系。各地同行还对上海、福建、江苏、安徽^[17]、湖南、浙江^[18]、广东、四川、云南^[19]、吉林^[20]、辽宁^[21,22]、陕西、河南、河北、山东^[23,24]、广西^[25]、青海^[26]、江西^[27] 等省(区)进行了广泛的调查研究。据不完全统计,我国现已报道能形成外生菌根的真菌约 28 科、63 属、近 600 种。此外,针对马尾松 (*Pinus massoniana*)、油松 (*P. densiflora*)、赤松 (*P. tabulaeformis*)、湿地松 (*P. elliotii*)、黄山松 (*P. taiwanensis*)、樟子松 (*P. sylvestris* var. *mongolia*)、红松 (*P. koraiensis*)、加勒比松 (*P. caribaea*)、火炬松 (*P. taeda*)、云南松 (*P. yunnanensis*)、思茅松 (*P. kesiya* var. *langbianensis*) 及高山松 (*P. densata*) 等主要松类树种开展的调查研究,共报道外生菌根真菌 20 科、41 属、184 余种。其中,红菇科 (Russulaceae)、牛肝菌科 (Boletaceae)、丝膜菌属 (*Cortinarius*)、丝盖伞属 (*Inocybe*)、鹅膏属 (*Amanita*)、口蘑属 (*Tricholoma*) 及豆马勃属 (*Pisolithus*) 等真菌为大多树种和生境下的常见类群^[16,18,19,28~30]。此外,一些真菌还同时与某些阔叶树,如:桉树属 (*Eucalyptus*)、栎属 (*Quercus*)、桦木属 (*Betula*)、栲属 (*Castanopsis*)、杨属 (*Populus*) 等形成外生菌根。对我国南方 4 省的部分桉树人工林中的调查结果,报道外生菌根真菌 11 科、15 属、22 种;其中,多根硬皮马勃 (*Scleroderma polyrhizum*)、*Pisolithus tinctorius*、*Laccaria amethystea* 等较为常见^[31]。近年来,在对西北地区陕西省的杨树 (*Populus* spp.) 菌根

菌资源进行的调查中,共记录外生菌根真菌 8 科、10 属、11 种^[23~24,32]

上述外生菌根资源仅是有限地区和有限树种中的一部分。我国幅员辽阔,植被类型多样,物种丰富,立地条件复杂,菌根资源调查研究任重道远。

2 外生菌根分类鉴定

外生菌根研究首先面临的问题就是菌根的识别与鉴定。传统的分类鉴定主要是根据菌根真菌子实体的形态学、解剖学等特征来确定。随着菌根研究的深入,已发展到从菌根的形态学、解剖学、生理学,甚至分子生物学方面来进行分类鉴定,特别是分子生物技术的发展,为菌根的鉴定提供了更为准确的依据。

Frank 发现菌根的初期,根据菌套及哈蒂氏网的有无及菌丝体是否进入细胞内等特征,将菌根分为外生菌根和内生菌根两大类。Melin 首次开始对外生菌根进行分类研究,利用菌根的一些宏观特征将外生菌根分为 4 个基本类型和 2 个亚类^[33~34]。Trappe 提出了一个鉴定菌根的原则,认为对真菌共生体的鉴定应主要根据菌丝体的特征,如锁状联合的有无、菌丝细胞分隔、结构等比较稳定的特征来确定,而那些不稳定的特征,如外部形态、颜色等仅作为参考^[34,35]。Dominik 首次提出较为详尽的外生菌根分类系统,同时发表了一个菌根分类检索表,其主要依据仍然是菌根的形态解剖特征,共分为 12 个亚类 (Subtype),再根据每个亚类中其菌套特征及颜色等分为 1~9 个属 (Genus)^[33,36]。多数菌根的颜色常受到各种条件影响而变化较大,因此同一个属内包含的内容十分复杂,同时这种分类法也没有真正反映出植物与共生真菌之间的自然关系。Zak 在总结前人对外生菌根分类研究的基础上,提出了一个专门用于菌根特征描述的“特征表”,对某些需要进行描述的特征提出其主要含义及划定标准,对菌根的命名,主张用宿主植物名+菌根真菌名的方法,如 *Pseudotsuga menziesii* + *Rhizopogon vinicolor*^[33,34,36]。这一菌根命名法可取的一面是将特定的树种与特定的菌种一一对应;但在自然界中,往往一种植物与多种真菌或一种真菌与多种植物发生菌根关系;因此,这一命名法未能反应自然界的实际情况。

还有很多科学家就某一树种或某一类真菌形成的菌根进行有关特征的描述及分类研究。Fassi 和 Vecchi 描述了美国五针松 (*Pinus strobus*) 苗木上的 5 种菌根。Marks 描述了 40 年生的辐射松 (*Pinus radiata*) 的 7 种外生菌根。Chilver 利用他认为是菌根分类最有用的两个主要特征,即菌套的表面形态结构和菌套上根状菌索的结构,对澳大利亚桉树林中的 8 种外生菌根进行描述及分类,鉴定出其中 2 种菌根真菌。Alvarez 和 Cobb 将采集于白冷杉 (*Abies concolor*) 幼苗的菌根分成 9 类,并描述了其中 5 类菌根的宏观和微观特征。Mejstrik 将辐射松的外生菌根分成 8 个亚类,13 个亚亚类。Thomas 和 Jackson 描述了北美云杉 (*Picea sitchensis*) 幼苗的 7 种菌根,指出其中 2 种分别是漆蜡蘑 (*Laccaria laccata*) 和疣革菌 (*Thelephora terrestris*) 侵染而成。Malajczuk 和 Hingston 根据菌根颜色的不同,将边缘桉 (*Eucalyptus marginata*) 的菌根分为白色、褐色和黑色 3 类^[33]。

Agerer 对外生菌根进行了一系列的形态学、组织学和细胞学研究,制定了欧洲山毛榉 (*Fagus sylvatica*)、挪威云杉 (*Picea abies*) 和松树 (*Pinus* spp.) 的菌根检索表^[38~40],从中可检索出形成菌根的红菇属 (*Russula*)、乳菇属 (*Lactarius*)、须腹菌属 (*Rhizopogon*)、牛肝菌属 (*Boletus*)、蜡伞属 (*Hygrophorus*)、块菌属 (*Tuber*)、绒盖牛肝菌属 (*Xerocomus*) 等十余属的真菌,是目前为止菌根鉴定较全面的参考资料。

国内在外生菌根分类方面的研究很少。赵忠等根据菌根不同的形态和解剖特征,将中原地区的毛白杨 (*Populus tomentosa*) 外生菌根划分成 14 种类型,从中鉴定出 5 种外生菌根^[24]。黄亦存等描述了两种乳菇属真菌与湿地松形成的菌根的形态学和组织学特征,认为具有乳汁菌丝是乳菇属真菌形成的菌根的共同特征,并根据已报道资料制定了乳菇属真菌所形成菌根的检索表^[41]。

随着现代生物技术和实验技术手段的不断提高,菌根分类已从传统的方法走向现代生物技术方法,特别是以分子为基础的现代分子生物技术方法。分子生物学方法通常是提取菌根真菌的 DNA,PCR (多聚酶链式反应) 进行扩增,然后凝胶电泳测定其扩增物,建立信息文库 (Library),利用文库中不同菌种的 DNA 序列与已知菌种进行比对,确定与根部共生的未知真菌。Hu 利用形态学、解剖学和生物化学方法,将银杉 (*Abies alba*) 的菌根分为 12 种类型;利用扫描电镜及颜色反应的观测结果,将台湾杉 (*Tawania cryptomerioides*)

的菌根分为 2 种类型^[33]。Mehmann 等利用限制性片段长度多态性测定法 (RFLP), 分析了菌根菌的氨基酸及核酸序列, 鉴定出粘滑菇属 (*Hebeloma*) 2 个种^[42]; Pinkas 等利用 AP-PCR 技术对黑孢块菌 (*Tuber melanosporum*) 进行鉴定^[43]; Eberhardt 等利用 ITS 序列的 PCR 扩增物进行 RFLP 分析, 对 *Lactarius* 外生菌根进行鉴定^[44]。陈应龙等利用 ITS_{1-F}, ITS_{4-BDE} 等特异性引物, 成功地对我国桉树林中的 *Pisolithus* 的 5 个菌株 (其中 3 个为从澳大利亚引进并在我国成功合成的菌株, 2 个为我国土著菌株) 和 2 个澳大利亚菌株完成了基因的序列测定^[45]。同源性分析表明: 3 个引进并合成成功的菌株和 2 个澳大利亚土著菌株之间具有较高的同源性 (相似性百分比在 90% 以上), 而它们和 2 个中国土著菌株之间则表现出了相对较低的同源性 (相似性百分比在 60% 左右)。

传统的分类鉴定历来是菌根研究的基础, 但存在着许多弊端, 如: 有些真菌需经过较长时间的发育与分化阶段才产生子实体或不产生子实体, 就很难或无法进行菌根菌的鉴定。对于这类真菌, 人们一直企图寻找一种只需根据菌根的形态、解剖学等特征, 就能直接鉴定出菌根菌的方法, 虽然在个别地区或个别树种上已有使用这种方法的成功例子, 但是至今仍无法广泛应用。以分子为基础的现代分子生物学等高新技术在菌根研究中的应用, 给菌根学的发展注入了新的活力。但这些技术仍处于探索阶段, 还需进一步发展与完善, 才能真正应用于分类鉴定中。

综上所述, 外生菌根分类鉴定大致可分为 3 个阶段, 即以 Melin 为始的宏观分类鉴定法为第 1 阶段; 以 Trappe 至 Agerer 提出的宏、微观相结合的分类原则为第 2 阶段和 Mehmann 等近些年新引进的分子生物技术作为鉴定手段的第 3 阶段。若能将宏观、微观、生化及分子生物技术等有机的结合起来, 菌根的分类鉴定将会得到进一步发展和完善, 现代生物技术也将显示出更为广阔的应用前景。

3 外生菌根生态学

菌根生态学研究是近十几年新兴起的学科领域, 研究历史不长, 却表现出很高的科研价值和应用前景。其研究发展似有以下趋势: 在自然生态系统中的菌根菌生态及与其它因素的关系即共生理基础、共生机制的研究; 研究地区由热带扩展到干旱地区及高山地区; 研究深度从宏观生态系统发展到微生态系统的研究; 研究广度从理论基础发展到应用技术研究^[33]。

对特定林型下外生菌根类型自然演替现象进行的研究表明: 从幼龄林到成熟林, 外生菌根类型有变化^[5-46]。如: 云南松幼林在 5 年生以内, 林下菌根菌种单一, 多数为 *Pisolithus* 属真菌; 5~10 年生的云南松幼林, *Pisolithus* 属真菌仍是主要菌种, 但是出现频度明显降低, 同时开始出现 *Suillus* 属真菌; 树龄在 10~20a 时, 外生菌根真菌属、种明显增多, *Boletus*、*Suillus*、*Russula*、*Lactarius*、*Amanita*、*Tricholoma* 等属真菌大量出现, 成为林下优势类群; 到了 20a 以上的阶段, 随着树木进入成熟阶段, 林地条件的改变, 如地被物、郁密度变化等, 外生菌根真菌物种多样性反而有所下降。反应了动态演替的自然规律性。此外, 就不同土壤条件下菌根菌组成的研究, 发现自然或人为改变土壤 pH 值条件下, 其菌种组成有变化。Harvey 等还发现森林中腐木和腐殖质的多少也直接影响外生菌根的形成及组成类型。位于土壤表层的腐殖质是外生菌根生存的主要基质, 但在早期, 腐木则因其较好的保湿性, 可能对外生菌根起到更为关键的支持作用^[47]。

通常情况下植物形成菌根后可提高宿主的抗逆性 (抗旱性、抗涝性、抗盐碱、抗极端温度、抗重金属等)。因此, 对旱地、重金属污染等逆境条件下菌根应用研究进行的探讨较多。研究表明土生空团菌 (*Conococcum geophilum*) 是一种抗性广泛、抗逆性强的外生菌根菌, 在干旱、盐碱地和高污染地区, 只有土生空团菌可以与这些地方的树木共生形成菌根^[48]。厚环乳牛肝菌 (*Suillus grevillei*)、灰盖牛肝菌 (*Boletus griseus*) 和一种牛肝菌 (*Boletus* sp.) 在低水势下生长极好, 具较强的抗旱能力^[49]。*Pisolithus tinctorius* 适应的温度范围很广, 能在 40℃ 和 -7℃ 的条件下生存^[33]。据 Marx 报道, 在含超量 Al、S、Mn、Cu 和 Fe 等重金属的露天煤矿废墟上, 用 *Pisolithus tinctorius* 接种松树幼苗后, 其造林成活率普遍提高, 而用其他菌种接种的幼苗, 常不能成活^[50]。根据生态环境、地质、气候等选择利用相应的外生菌根菌接种, 将为提高植物的抗逆性, 提高生态安全与促进生态环境的恢复与重建提供一条新的途径。

菌根真菌作为数据化生态系统中的组成部分, 有着不可替代的作用。无论是森林或草原都很大程度上依赖于和菌根真菌共同组成的共生生态系统。菌根真菌及其共生的植物以及以真菌为食的动物是协同进

化的,并在维持自然生态系统中的生物多样性具有特殊的意义。由于菌根真菌的物种多样性构成了庞大繁多的共生生态系统,特别是土壤上层由真菌及其他菌物和植物营养根系共同构成了复杂的土壤生态系统,对整个生态系统的稳定起着重要的调控作用^[52]。近年来,由菌根真菌等构成的地下共生生态系统的研究成为生态学研究的一个热点。Read、Bowen、Amaranthus 和 Trappe 等对菌根在生态系统的作用进行综合评价^[52~55],并普遍开展了地下菌丝系统的研究,提出了地下“菌丝网络”(Hyphal Network)等概念,认为整个生态系统是一个紧密相连、不可分割的整体^[56]。很多外生菌根真菌和几乎所有的泡囊丛枝(Vesicular Arbuscular, VA)菌根真菌没有严格的共生专化性,一个共同的菌丝体可能与二个或以上同一种或不同种宿主连在一起,形成地下菌丝网络系统,使碳、氮、磷等营养物质以及生物信息在植物甚至不同生物之间传递,成为地下生态系统中生物之间物质和信息交换的枢纽。在植物-真菌-土壤微生物等相互作用的全过程中,地下菌丝网络系统的结构和作用是复杂和多层次的,阐明其结构、功能、机理等对生物资源的有效保护和合理利用及保持生态系统的稳定有着极其重要的意义。

4 外生菌根生理学

菌根生理学是研究菌根生命活动规律的科学。它的任务是研究和了解在各种环境条件下,菌根进行生命活动的规律和机理,并将这些研究成果加以应用。

菌根营养生理研究中,对磷的吸收和分配研究较多,碳及氮的吸收利用也有研究。以往的研究强调菌根在磷吸收方面的重要作用,因此,常常把菌根促进植物的生长作用归结于菌根促进磷吸收的缘故。大量的试验证明,菌根化根系吸收磷的速率比未菌根化的根系快的多。菌根促进磷的吸收的机制较为复杂,包括化学、物理和生物等多方面的综合效应。概括如下:(1)延长吸收根的生命,提高了磷的吸收量;(2)扩大土壤有效利用空间和根系吸收面积,提高了土壤磷的有效利用;(3)增加磷的亲合力,降低吸收临界浓度;(4)产生磷酸酶,促进磷的吸收;(5)改善根际微环境,有利于植物对磷的吸收。外生菌根在吸收磷的过程中,只将小部分磷输送给宿主植物,供其代谢所用,而将大部分以聚磷酸盐的形式存在菌套中。在外界环境缺磷时,就通过氧供给、湿度和代谢抑制等生理作用,使菌套中贮存的磷运向宿主植物,满足正常代谢对磷的需求^[57]。

Frank 很早就提出了“菌根氮理论”,此理论已被广泛接受,但研究进展不大。Hatch 则提出“盐吸收理论”,认为菌根有助于从土壤中大量吸收各种营养元素,实验证明,菌根化植株比非菌根化植株不仅吸收量大,而且单位质量中氮、磷、钾等含量较高。实际上菌根中氮的转运和代谢机理是一个极其复杂的问题,还存在着许多疑问需要解答^[57]。

菌根真菌很少或完全没有分解和吸收土壤中碳(纤维素、果胶质、木质素等)的能力,而是由腐生真菌、动物、细菌及其他微生物共同负担着这些糖类物质的分解,释放出 CO₂,然后通过植物的光合作用再把 CO₂ 转化成可被利用的碳水化合物,运向根部,用于根、根际微生物和菌根真菌的生长和呼吸作用,从而实现碳元素的自然循环利用。植物将光合产物运输给菌根真菌,并以本身不能直接利用的碳水化合物(海藻糖、甘露糖、糖原等)的形式存储在菌套或菌丝内。植物根向根际释放碳水化合物是菌根真菌获得碳源的另一途径。碳水化合物从宿主植物向真菌流动及磷从真菌向宿主反向流动的机理尚处于假设阶段,还需要进一步的研究证明^[57]。

另据报道,许多外生菌根菌在生长及共生过程中可产生多种生长刺激物质,如:生长素(Auxin)、细胞分裂素(Cytodinin)、赤霉素(Gibbereline)、脱落酸(Abscisic acid)等^[49,58]。这些生长激素同植物本身所产生的植物生长激素是同性质的,表明外生菌根真菌对植物生长发育及分化起着调控等多重作用。

外生菌根在植物病理方面的研究也有明显的进展。根据 Marx 的资料,郭秀珍整理出对病原菌具有一定拮抗作用的外生菌根真菌 105 种^[50],表明菌根具抗病性是一普遍现象。在 *Pinus taeda* 幼苗上,接种 *Pisolithus tinctorius* 可以防治由立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)引起的猝倒病,不仅提高苗木成活率而且还促进幼苗生长^[50,59]。唐明等利用几种外生菌根菌及 VA 菌接种北京杨(*Populus beijingensis*),结果证明菌根感染程^{房芳数据}腐病(*Dothiorella gregaria*)的发生呈显著的负相关性,其中外生菌根的作用更加显著^[33]。弓明钦等应用 8 种外生菌根菌对桉树青枯病(*Pseudomonas solanacearum*)进行测定的结果表明,8

个菌株对青枯病均有不同程度的抑制效果,而未接种的林地上,青枯病的发病率可达 25% 以上^[60]。

另外,研究人员发现松口蘑及其近缘种与共生植物形成的菌根具有抗菌能力,且抑菌力的强弱因菌种的不同而异。其中 *Tricholoma matsutake* 抗菌能力较强,在其菌根及其菌丝活动区域内,土样中只发现有被孢霉属 (*Montierella* spp.) 的种类,而被孢霉菌对细菌和放线菌均没有抑制作用,在该区域外则存在大量的细菌和放线菌。可以看出,松口蘑的地下菌丝和菌根活动带内土壤细菌和放线菌的消失与松口蘑地下菌丝的活动和菌根的存在有密切的关系,很可能与松口蘑地下菌丝或菌根的抗菌素类物质有关^[61]。

外生菌根的抗病机理一直是人们关心和重视的问题。虽然具体的抗病机理目前还不清楚,但一般认为有以下几方面的作用:(1) 外生菌根菌产生抗生物质对植物病原菌具有一定的拮抗作用;(2) 在菌根根际周围形成一个由根际微生物组成的保护层;(3) 菌套形成的机械屏障也被认为是其抗病机理之一;(4) 植物及菌根的分泌物也是产生抗病的原因。

把对病原菌拮抗作用较强的外生菌根菌应用于植物根、茎部疾病的生物防治,对保障生态安全,无疑是一个很有发展前景的研究与应用方向。

5 外生菌根分子生物学

随着生命科学的发展和研究方法的不断创新,以分子为基础的分子生物技术,在各学科领域中得到了广泛的应用。这一现代生物技术,也早已引起中外菌根学家的关注。近几年来,菌根分子生物学也得到了较快的发展。如:DNA、同工酶和杂交瘤技术等先进的生物技术在菌根研究中都得以应用和发展。

5.1 DNA 分析技术

DNA 分析技术的引入,使菌根研究得到了空前的发展。目前,PCR、PCR-RFLP、PCR-RAPD (随机片段长度多态性) 等技术已应用于菌根真菌的分类鉴定、种间及种内亲缘演化关系、菌株持久性等方面。这些技术有助于人们鉴定以及从定性和定量角度去研究宿主与菌根真菌的相互关系和共生机理。Rygiewicz 等对菌根 DNA 的提取和分析方法做了许多有意义的探索;Armstrong 等从菌根和菌根真菌中提取到 DNA,并采用限制性核酸内切酶对 DNA 进行酶切,用来从事 DNA 杂交研究;Henrion 等对 *Laccaria bicolor*、*L. laccata*、*L. proxima*、*L. tortilis* 的 26 个菌株的 DNA 分别进行分析,揭示出这些菌株在种间和种内存在的多态性^[33]。

5.2 同工酶分析技术

Sevior 和 Chivers 首次将电泳技术应用于菌根研究中,在 *Eucalyptus-Pisolithus* 菌根共生体中分离得到真菌蛋白^[33]。近些年来同工酶分析技术已较广泛的应用于外生菌根菌的分类鉴定和种群遗传学研究中。在菌根研究中,同工酶分析已成为一种很有价值的研究方法,将其与其他分子生物学方法相结合,将有助于真菌的分类学研究,有助于根部菌根真菌侵染的鉴别和定量分析,有助于对菌根的生态学、生理学、遗传学及生物化学等方面的研究。

目前对菌根同工酶研究的报道虽然有限,但已在菌根真菌系统分类和生态关系方面取得了一些成果。Sen 对 *Suillus bovinus* 和 *S. variegates* 的 7 种同工酶图谱进行了比较分析,发现相应的种间酶类表现出相当大的差异性 (11% 的相似性),而在这两个菌种内各自的特异相似性则高达 65%。用未接种的同一植物的根和相应菌根真菌的同工酶进行比较,可鉴定出宿主和真菌的多种同工酶图谱的差异。采用与侵染菌丝直接相关的真菌同工酶活性检测法和绝对活性的光密度检测法,可以对 VA 菌根中菌丝的代谢活性进行评价。类似地,Sen 对 *Suillus bovinus* 和 *S. variegates* 在 *Pinus sylvestris* 上合成的形态上相似的菌根进行鉴别,通过与宿主同工酶相对照,能检测出肽酶和脂酶同工酶的差异,而这种具有保守性和种间特异性的真菌同工酶,无疑对鉴别根部是否侵染有特定菌根真菌提供了可靠依据。由于同工酶图谱能用来区别形态上相似的菌根类型,从而为菌根真菌生态研究提供了有价值的技术手段^[33]。

5.3 杂交瘤技术

近期杂交瘤技术和单克隆抗体 (Monoclonal antibody, McAbs) 已在菌根研究中得到应用,但是这些研究仍依赖于其他植物共生系统或植物-病原菌系统所获得的 McAbs。探索和生产出更多针对菌根宿主和菌根真菌特定结构成分的 McAbs,将有助于我们在分子水平上理解和认识菌根真菌与宿主植物间的相

互关系。到目前为止,由于杂交瘤技术在菌根研究中仍存在着许多局限性,属于起步阶段,获得的成果很少。

Wright 等从 VA 菌根真菌 *Glomus occultus* 孢子中分离出 2 种专性 McAbs,用来对具有相似形态的 VA 菌根真菌进行鉴别,并能检出存在于感染宿主组织中的真菌。Perotto 也成功分离出一种 McAbs,用它能够区别侵染性和非侵染性的杜鹃真菌菌株^[33]。

研究和观察结果表明,豆科植物可以同时形成根瘤和 VA 菌根,通过使用相同的抗体对相互作用的特定方面进行了一些比较研究,如:利用针对植物细胞壁成分的 McAbs 来确定宿主植物对根瘤菌和 VA 菌根侵染过程中的相应反应,结果表明,在被根瘤菌和 VA 菌定殖的早期阶段,宿主植物细胞壁成分具有相似的排列,同时也揭示了在胞外阶段界面的不同类型的形成过程。虽然这一技术至今尚未见在外生菌根研究中应用,但由此及彼,相得益彰,不失为外生菌根研究的一个新途径、新方法。

分子生物技术的引进,对了解和认识菌根的机理及其功能,促进菌根学发展和推动菌根技术在农林和园艺上的应用将起着重要的作用。虽然与植物等学科分子研究相比,分子生物技术在菌根研究中应用相对较少,一些技术还有待于进一步完善,但是已经展示了其特有的优越性。

6 外生菌根生物技术及应用现状

随着人们对菌根研究的不断深入,外生菌根在生态系统的稳定、农林业生产和社会经济等方面所表现出的重要性,越来越引起人们的关注,目前外生菌根技术在引种、菌根化育苗造林、逆境造林、植物病害防治以及食用菌生产等方面的应用都已取得了初步成效。

6.1 引种

引种一种新的植物时,应同时引进相应的菌根真菌,尤其是那些专性菌根树种(如松树等)。许多国家和地区都因缺少菌根真菌导致引种失败,例如:南美的波多黎各岛引种 27 种国外松,近 30 年均告失败,直到引入原产地的菌根真菌才造林成功。我国广东省林业科学研究所 1974 年引种 *Pinus elliottii*、*P. caribaea* 和 *P. taeda*,由于缺乏足量的菌根真菌,造林几告失败。之后采用菌根真菌接种的幼苗进行造林,使得这三种松树的成活率分别达到 86%、100%、97%^[50]。

6.2 菌根化育苗造林

采用菌根化育苗造林不仅可以提高造林成活率;促进树木生长,提高木材产量;提高林木吸收利用养分的能力;而且苗期接种还可以大大减少菌剂的用量,节约成本。具有省工、省料、省成本及技术配套的优点,值得推广研究。世界上许多国家和地区都规定在特定情况下造林,必须采用菌根化的苗木。如:美国规定在湿草原地区育苗造林必须对苗木进行接种。为此,美国还成立了“菌根技术公司”,专门为林木菌根化提供菌根生物制剂。前苏联规定在森林草原地带建立苗圃要采取接种菌根的措施^[50]。我国育苗虽还没有成文规定,但在许多地方已开始大面积苗木接种,并取得一定的成效。中国林业科学院林木菌根研发中心也进行了菌根生物制剂的生产和应用技术的研究,并在全国 20 个省(区)推广,取得了显著的成效。

6.3 逆境造林

在许多荒坡废地上造林,历来是一项艰巨的工作。在这些常规造林困难的地区,选择适宜的树种和适应性强的外生菌根菌,采用人工合成菌根技术可以大大提高造林的成活率,加速植被的恢复,防止地力衰退和环境的进一步恶化,促进生态平衡。在我国西部生态环境恢复与重建中将会起到极其重要的作用。

6.4 防治植物根部病害

近年来,国内外许多研究结果表明,菌根菌对植物病原菌有一定的拮抗作用,从而将菌根技术作为植物病害生物防治的一种手段,取得了较好的效果。菌根技术在植物根部病害防治中的应用,不仅能增强植物的抗性,减少农药等化学制剂的使用,避免造成环境污染,实现生态安全,而且可以提高土壤的活性,增加土壤有机质,改善土壤理化结构,维持根际微生态系统的健康与稳定。

6.5 外生菌根食用菌

外生菌根食用菌有一大部分为食用菌,如:鸡油菌 (*Cantharellus cibarius*)、松乳菇 (*Lactarius deliciosus*)、变绿红菇 (*Russula virescens*)、黑孢块菌 (*Tuber melanosporum*)、松口蘑 (*Tricholoma*

matsutake)、美味牛肝菌(*Boletus edulis*)等。但遗憾的是现在还不能完全人工栽培,而只能利用菌根技术,在活的植物根部进行“菌根合成”。法国等已研制成功这一技术,由其 Agro-Truffe 公司率先宣布黑孢块菌的栽培成功,意大利等国家也先后建立了块菌的种植园,成功地向人们展示了这一菌根技术应用的广阔前景。因此世界上产生了许多以生产名贵菌根食用菌为经营目的的新型经济林。许多国家已成立了专门的机构,从事外生菌根食用菌的研究和生产。

7 我国菌根研究的问题与建议

与国际外生菌根研究相比我国起步较晚,但发展迅速,至今已在许多研究领域取得突破性进展,有的研究成果已经达到甚至超过世界先进水平。如:*Pisolithus tinctorius* 菌根制剂的研究、开发和利用^[62];截菌菌根化育苗和造林技术^[63];对主要造林树种的菌根应用技术等^[33]。当前我国外生菌根研究具有向实际应用方向发展的趋势。目前已投资建成一条菌剂生产线,年产可达 1000t,应用面积每年可达数万 hm²。同时注重食用菌菌根的应用研究,如云南正着重研究干巴菌(*Thelephora ganbajun*)、*Tricholoma matsutake*、*Russula virescens*, 湖南、江苏开展 *Lactarius deliciosus* 的研究,东北对 *Tricholoma matsutake*、*Suillus grevillei* 的应用研究,以及四川等省正在开展的对块菌(*Tuber* spp.)的应用研究^[33]。

但是我国的菌根研究与我国菌根资源大国的地位和实施西部大开发的战略要求不相适应,与国际本领域研究进展相比较仍存在着如下问题:

(1) 外生菌根基础研究严重滞后,许多重要经济树种的外生菌根共生关系尚不清楚,资源调查力度不够,家底不清;适合于我国主要造林树种和不同立地条件的优良外生菌根真菌研究不够。

(2) 外生菌根真菌尚缺乏足够的分离、培养、保藏、扩大繁殖及菌剂研究和生产的成熟技术,限制了外生菌根研究和应用的进一步深入;已有的仅限于少数种的应用生物技术也没有得到充分的应用和推广。

(3) 对造林树种菌根化育苗和造林的配套技术缺乏系统的研究;目前,我国尚无一树种具有完整的菌根应用配套技术,以致阻碍了菌根生物技术的推广应用。

针对以上提到的几点问题,就我国今后外生菌根研究提出如下 3 点建议:

(1) 加强对各种自然地理区域、森林类型及土壤条件下外生菌根资源调查和研究,广泛收集外生菌根真菌菌种,通过回接等实验确认对应植物属种,对外生菌根菌进行分类鉴定、编目,建立菌种库、数据库和外生菌根 DNA 文库。注意先进生物技术对菌根研究中的应用以及现代分子生物技术与经典研究技术相结合。

(2) 针对我国主要造林树种和不同立地条件进行优良菌种和菌株筛选;改革我国传统育苗和造林的经营管理体制,通过制定相应的政策予以规范;侧重支持研究主要造林树种菌根化育苗和造林的新技术、新工艺。

(3) 充分利用我国外生菌根的资源优势,拓宽优势优化领域,把育苗造林、生态环境治理和食用菌、药用菌开发紧密地结合起来,研究发展林业-食用菌-药用菌立体经营模式。

参考文献

- [1] Harley J L, Smith S E. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, London, 1983. 1~483.
- [2] Miller O K J. Taxonomy of Ecto- and Endomycorrhizal fungi. In: Schenck N C ed. *Methods and Principle of Mycorrhizal Research*, 1982, 91~101.
- [3] Trappe J M. Fungus associates of ectotrophic mycorrhizae. *Bot. Rev.*, 1962, **28**: 538~606.
- [4] Bougher N L. Diversity of ectomycorrhiza associated with *Eucalyptus* in Austrilia. In: Brundret M, Dell B, Malajczuk N, et al. ed. *Mycorrhizas for plantation forestry in Asia*. ACIAR Proceedings No. 62, 1994. 6~15.
- [5] Jumpponen A, Trappe J M, Cázares E. Ectomycorrhizal fungi in Lyman Lake Basin: a comparison between primary and secondary successional sites. *Mycologia*, 1999, **91**(4): 575~582.
- [6] Marks G C. The classification and distribution of the mycorrhizas of *Pinus radiata*. *Aust. For.*, 1965, **29**: 238~251.
- [7] Michael A C, Bougher N L. Consideration of the taxonomy and biodiversity of Australian ectomycorrhizal fungi. *Plant and soil*, 1994, **159**: 37~46.
- [8] Myra C L. Mycorrhizal fungi of *Pinus radiata* in New Zealand. *Soil Biol. Biochem.*, 1979, **11**: 557~562.
- [9] Pampolina N M, de la Cruz R E, Garcia M U. Ectomycorrhizal roots and fungi of Philippine Dipterocarps, In:

- Brundret M, Dell B, Malajczuk N, *et al.* ed. *Mycorrhizas for plantation forestry in Asia*. ACIAR Proceedings No. 62, 1994, 21~29.
- [10] Rincón A, Álvarez I F, Pera J. Ectomycorrhizal fungi of *Pinus pinea* L. in northeastern Spain. *Mycorrhiza*, 1999, **8**: 271~276.
- [11] Tam P C F. Mycorrhizal associations in *Pinus massoniana* Lamb. and *Pinus elliottii* Engel. inoculated with *Pisolithus tinctorius*. *Mycorrhiza*, 1994, **4**: 255~263.
- [12] Yang Z L, Zang M, Yuan M S. Distribution, ectomycorrhizal association and diversity of *Amanita* in Southwestern China. In: Gong M Q, Xu D P, Chen L Z, *et al.* eds. *Mycorrhizal fungi biodiversity and application of inoculation technology*. 1998. 29~38.
- [13] Yang Z L (杨祝良). Species Diversity of the genus *Amanita* (Basidiomycetes) in China. *Acta Bot. Yunnanica*(in Chinese) (云南植物研究), 2000, **22** (2): 135~142.
- [14] Bi G C (毕国昌), Zang M (臧穆), Guo X Z (郭秀珍). Distribution of ectomycorrhizal fungi under chief forest types in alpine coniferous regions of North Western Yunnan. *Scientia Silvae Sinicae*(in Chinese) (林业科学), 1989, **25**(1): 33~39.
- [15] Chen K K (陈可可), Xuan Yu (宣宇). An investigation on ectomycorrhizal fungi from the subalpine coniferous forest region. N. W. Yunnan. *Acta Bot. Yunnanica*(in Chinese) (云南植物研究), 1986, **8**(3): 229~304.
- [16] Zang M, Chen K K. Ectomycorrhizal fungi associated with alpine conifers from southwestern China. *Acta Mycol. Sin.*, 1990, **9**(2): 128~136.
- [17] Wu R J (吴人坚), Tan H C (谭惠慈). Ecological distribution of 23 ectomycorrhizal fungi species. *Scientia Silvae Sinicae* (in Chinese)(林业科学), 1983, **19**(3): 327~331.
- [18] Zhou C L (周崇莲), Han G Z (韩桂芝), Zhou Y Z (周玉芝), *et al.* Studies on some ectomycorrhizal fungi of Pine. *Acta Ecologica Sinica* (in Chinese)(生态学报), 1983, **3**(2): 103~109.
- [19] Hua X M (花晓梅), Jiang C Q (姜春前), Liu G L (刘国龙). Floristic survey of ectomycorrhizal fungi for the southern Pine in China. In: Hua X M (花晓梅) ed. *Studies on mycorrhiza of forest trees*(in Chinese). Beijing: Chinese Science and Technology Press, 1995. 35~46.
- [20] Han S Y (韩绍英). Ectomycorrhizal fungi of Jiaohe, Jilin. *Edible Fungi of China* (in Chinese) (中国食用菌), 1993, **12**(5): 24~24.
- [21] Han R X (韩瑞兴), Wang S Q (王淑清), Lian Q S (梁庆书). Floristic survey and selection of superior mycorrhizal fungus of Larch (Brief report) In: Hua X M (花晓梅) ed. *Studies on mycorrhiza of forest trees* (in Chinese). Beijing: Chinese Science and Technology Press, 1995. 100~107.
- [22] Meng F R (孟繁荣), Shao J W (邵景文). The ecological distribution of ectomycorrhizal fungi in main coniferous forests in Northeast China. *Mycosystema* (in Chinese)(菌物系统), 2001, **20**(3): 413~419.
- [23] Tang M (唐明), Chen H (陈辉), Guo Y (郭渊). Study on ectomycorrhizae for major economic trees in mountains areas of Southern Shanxi. In: Hua X M (花晓梅) ed. *Studies on Mycorrhiza of forest trees*(in Chinese). Beijing: Chinese Science and Technology Press, 1995. 94~99.
- [24] Zhao Z (赵忠), Ma K X (马刊欣), Duan A A (段安安). Research on types and ecological characteristics of ectomycorrhiza of *Populus tomentosa*. In: Hua X M (花晓梅) ed. *Studies on Mycorrhiza of forest trees* (in Chinese). Beijing: Chinese Science and Technology Press, 1995. 120~125.
- [25] He S C, B Lian, L Zhang. Ectomycorrhizal fungi associated with forest trees in Guizhou Province, China. In Brundret M, Dell B, Malajczuk N, *et al.* ed. *Mycorrhizas for plantation forestry in Asia*. ACIAR proceedings No. 62, 1994, 21~29.
- [26] Diao Z M (刁治民). Study on the resources of mycorrhizal mushrooms in Qinghai Province. *Edible Fungi of China* (in Chinese)(中国食用菌), 1998, **18**(2): 22~24.
- [27] Chen Y (陈晔), Xu Z G (许祖国), Fu B (付标). Ectotrophic mycorrhizal fungi and their ecological distribution in Lushan. *Chinese Journal of Ecology*(in Chinese)(生态学杂志), 1999, **18**(5): 25~28.
- [28] Chen L Q (陈连庆). Studies on symbiotic mycorrhiza fungi with Masson pine. *Forest Research*(in Chinese) (林业科学研究), 1989, **2**(4): 357~362.
- [29] Ji D G (纪大千), Chen K K (陈可可), Song M J (宋美金). Ectomycorrhizal research of *Pinus yunnanensis*. In: Hua X M (花晓梅) ed. *Studies on Mycorrhiza of forest trees* (in Chinese). Beijing: Chinese Science and Technology Press, 1995. 87~93.
- [30] Wang Y (王云), Xie Z X (谢志锡). A preliminary survey of ectomycorrhizal fungi of some forest trees in China. *Acta Mycol. Sin*(in Chinese) (真菌学报), 1983, **2** (1): 59~61.
- [31] Gong M Q (弓明钦), Chen Y (陈羽). A study on *Pinus* and *Eucalyptus* ectomycorrhiza in South China. *Forest Research*(in Chinese) (林业科学研究), 1991, **4**(3): 323~327.
- [32] Chen H (陈辉), Tang M (唐明), Zhang B Y (张博勇). Mycorrhizal investigation on economic trees in Guanzhong region of Shanxi. In: Hua X M (花晓梅) ed. *Studies on Mycorrhiza of forest trees* (in Chinese). Beijing: Chinese Science and Technology Press, 1995. 47~54.
- [33] Gong M Q (弓明钦), Chen Y L (陈应龙), Zhong C L (钟崇禄). *Mycorrhizal research and application* (in Chinese). Beijing: China Forestry Publishing House, 1997. 1~223.
- [34] Huang Y C (黄亦存), Shen C Y (沈崇尧), Qiu W F (裘维蕃). Studies on the morphology, anatomy and

- classification ectomycorrhizae. *Acta Mycologia Sinica*(in Chinese) (真菌学报), 1992, **11**(3):169~181.
- [35] Trappe J M. Principles of classifying ectotrophic mycorrhizae for identification of fungal symbionts. *Pro. Int. Union Forest. Res. Organ* 14th, Set 1967, **24**: 46~59.
- [36] Dominik T. Key to ectotrophic mycorrhizae. *Folia Forest Pol. Ser. A.* 1969, No **15**: 359~367.
- [37] Zak B. Characterization and Classification of Mycorrhizae of Douglas fir I. *Pseudotsuga menziesii* + *Rhizopogon vinicolor*. *Can. J. Bot.*, 1971, **49**: 1079~1084.
- [38] Agerer R. Studies on ectomycorrhizae II. Introduction remarks on characterization and identification. *Mycotaxon*, 1986, **26**: 473~492.
- [39] Agerer R. Studies on ectomycorrhizae III. Mycorrhizae formed by four species in genera *Lactarius* and *Russula* on spruce. *Mycotaxon*, 1986, **27**: 1~59.
- [40] Agerer R. Studies on ectomycorrhizae IX. Mycorrhizae formed by *Tricholoma sulfureum* and *T.* on spruce. *Mycotaxon*, 1987, **28**(2): 337~360.
- [41] Huang Y C (黄亦存), Huang Y Q (黄永青), Wang Y Z (王有智). Ectomycorrhizae formed by fungi in the genus *Lactarius* on *Pinus*. *Acta Mycol. Sin*(in Chinese) (真菌学报), 1996, **15**(4): 278~283.
- [42] Mehmman B. Nucleotide sequence variation of chitin synthases genes among ectomycorrhizal fungi and its potential use in taxonomy. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1994, **60**(9): 3105~3111.
- [43] Pinkas Y, Maimon M, Shabi E, et al. Inoculation, isolation and identification of *Tuber melanosporum* from old and new oak hosts in Israel. *Mycol. Res.*, 2000, **104**(4): 472~477.
- [44] Eberhardt U, Oberwinkler F, Verbeke A, et al. *Lactarius ectomycorrhizae* on *Abies alba*: morphological description, molecular characterization and taxonomic remarks. *Mycologia*, 2000, **92** (2): 860~873.
- [45] Chen Y L (陈应龙), Gong M Q (弓明钦), Dell Bernie. Use of molecular biological techniques to study mycorrhiza: advance and perspectives. In: Gong M Q (弓明钦), Xu D P (徐大平), Zhong C L (仲崇录), et al. ed. *Mycorrhizal fungi biodiversity and applications of inoculation technology*(in Chinese). Beijing: China forestry publishing house, 2000. 107~112.
- [46] Chilver. Ectomycorrhizal versus endomycorrhizal fungi with in the same root system. *New Phytologist*, 1987, **107**: 441~448.
- [47] Harvey A E, Jurgensen M F, Larsen M J. Seasonal distribution of ectomycorrhizae in a mature Douglas-fir/Larch forest soil in Western Montana. *For. Sci.*, 1978, **24**: 203~208.
- [48] Thompson G M, Medue R J. Effects of aluminium and managanese on the growth of ectomycorrhizal fungi. *Appl. Environm. Microbiol.*, 1984, **48**(3): 556~606.
- [49] Zhao Z P (赵志鹏), Guo X Z (郭秀珍). Ecological studies on ectomycorrhizal fungi in pure cultures. *Forest Research* (in Chinese) (林业科学研究), 1989, **2**(2): 136~141.
- [50] Guo X Z (郭秀珍), Bi G C (毕国昌). *Forest mycorrhiza and its applied technology* (in Chinese). Beijing: China Forestry Publishing House, 1989. 1~305.
- [51] Liu P G (刘培贵). Panomycetes Diversity. In: Guo H J (郭辉军), Long C L (龙春林) ed. *Biodiversity of Yunnan, SW China*(in Chinese). Kunming: Yunnan Science & Technology Press, 1998. 14~25.
- [52] Amaranthus M P, Perry D A. The functioning of ectomycorrhizal fungi in the field: linkages in space and time. *Plant and soil*, 1994, **159**: 133~140.
- [53] Bowen G D. The ecology of ectomycorrhiza formation and functioning. *Plant and soil*, 1994, **159**: 61~67.
- [54] Read D J. Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia*, 1991, **47**: 376~391.
- [55] Trappe J M. The meaning of mycorrhizae to plant ecology. In: Proceedings of the first Asian conference on mycorrhizae, 1988. 347~349.
- [56] Read D. The ties that bind. *Nature*, 1997, **338**: 517~518.
- [57] Hua X M (花晓梅). Introduction to mycorrhiza. In: Hua X M (花晓梅) ed. *Studies on mycorrhiza of forest trees* (in Chinese). Beijing: Chinese Science and Technology Press, 1995. 1~20.
- [58] Li Y P (李玉萍), Wang R (王蕤), Zhou Y L (周银莲). Extraction and identification on endogenous hormones from *Russula delica*. *Acta Mycol. Sin*(in Chinese) (真菌学报), 1988, **7**(4): 239~244.
- [59] Wang S Q (王淑清), Han R X (韩瑞兴), Luan Q S (栾庆书), et al. Study on the biological effect of the ectomycorrhizal fungi to damping off of pine seedlings (abstract). In: Hua X M (花晓梅) ed. *Studies on Mycorrhiza of forest trees*(in Chinese). Beijing: Chinese Science and Technology Press, 1995. 323.
- [60] Gong M Q (弓明钦), Wang F Z (王凤珍), Chen Y (陈羽), et al. Inhibitory effect of ectomycorrhizal fungi on bacteria wilt of *Eucalyptus*. In: Gong M Q (弓明钦), Xu D P (徐大平), Zhong C L (仲崇录), et al. ed. *Mycorrhizal fungi biodiversity and applications of inoculation technology*. Beijing: China forestry publishing house, 2000. 146~150.
- [61] Liu P G (刘培贵), Yuan M S (袁明生), Wang X H (王向华), et al. Notes on the resources of matsutake group and their reasonable utilization as well as effective conservation in China. *Journal of National Resources* (in Chinese) (自然资源学报), 1999, **14**(3): 245~252.
- [62] Hua X M (花晓梅). Research and application of mycorrhizal biotechnology of forest trees. In: Hua X M (花晓梅) ed. *Studies on Mycorrhiza of forest trees* (in Chinese). Beijing: Chinese Science and Technology Press, 1995. 21~34.