

七株外生菌根真菌与三种松苗菌根的形成能力

吴小芹,孙民琴

(南京林业大学森林资源与环境学院,江苏 南京 210037)

摘要:松树外生菌根菌资源丰富,但实际应用的种类不多。为筛选出与松苗形成菌根能力较强的菌种,采用播种接菌和芽苗截根移栽接菌两种方法,对 7 株外生菌根真菌与马尾松、湿地松和黑松 3 种松苗的菌根合成进行了研究。结果表明:形成的菌根以二叉分枝状为主,棒状菌根相对较少,多叉状菌根以马尾松较多。 Pt_2 形成的菌根表面菌丝厚且紧密,504、EG、 Pt_1 形成的菌根表面菌丝紧密程度中等,而 505、Z 和 HX 形成的菌根其表面菌丝则比较稀疏; Pt_1 、 Pt_2 、EG 形成的菌根外延菌丝较长,而 505、HX 形成的菌根外延菌丝极短。截根接菌时的感染率和感染指数要高于播种接菌。504 形成菌根的能力最强,在 3 种松苗上的菌根感染率都达 100%,感染指数最高可达 90,最低也达 70; Pt_2 和 EG 与马尾松和黑松形成菌根的能力较强;而 505 和 HX 仅与马尾松形成菌根的能力较强; Pt_1 形成菌根的能力较差,在 3 种松苗上菌根感染率和感染指数都较低。在 3 种松苗中,马尾松的菌根化状况最好,其次为黑松,湿地松的菌根化状况较差。

关键词:外生菌根真菌;松苗;菌根化;感染指数

文章编号:1000-0933(2006)12-4186-06 中图分类号:S763 文献标识码:A

Mycorrhizal formation between seven ectomycorrhizal fungi and seedlings of three pines species

WU Xiao-Qin, SUN Min-Qin (College of Forest Resources and Environment Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China). Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(12): 4186~4191.

Abstract: Although plenty of ectomycorrhizae are associated with pines, actually few ectomycorrhizae are developed into application. To obtain the ectomycorrhizal fungi having great abilities of mycorrhizal formation with pine seedlings, in this paper mycorrhizal formation of 7 strains of ectomycorrhizal fungi with seedlings of *Pinus elliottii*, *P. massoniana*, and *P. thunbergii* were tested with two inoculating methods: seeding and transplanting seedlings with root apices cut off. The results showed that the dominant form of ectomycorrhizae was dichotomous branching and unbranched ectomycorrhizae were less. Multiple branches of the ectomycorrhizae were more frequently developed on *P. massoniana*. Surface hyphae of mycorrhizae developed by Pt_2 were thick and dense, followed by *Boletus edulis* (504), *Amanita pantherina* (EG) and *Pisolithus tinctorius* (Pt_1) and surface hyphae developed by the other fungal strains were sparse. Extraradical hyphae of mycorrhizae developed by *P. tinctorius* (Pt_1 , Pt_2) and *A. pantherina* (EG) were longer, while extraradical hyphae of mycorrhizae developed by *Boletus speciosus* (505) and *Rhizopogon luteous* (HX) were very short. The method of cutting off root apexes of the young pine seedlings and then inoculating ectomycorrhizal fungi showed higher infection rate and index than inoculating during seeding. The ability of *Boletus edulis* (504) was the greatest in developing mycorrhizae among all the tested ectomycorrhizal fungi and its infection rates with the seedlings of three pine species were all 100%, its highest infection index reached 90 and the lowest infection index was 70. The abilities of Pt_2

基金项目:江苏省自然科学基金资助项目(BK2004217);国家自然科学基金资助项目(30571471)

收稿日期:2005-10-02;**修订日期:**2006-08-20

作者简介:吴小芹(1957~),女,福建人,博士,教授,主要从事森林微生物和植物病理学研究. E-mail: xqwu@njfu.com.cn; xqwu@njfu.edu.cn

致谢:感谢美国康涅狄克州农业试验站李德伟博士对本文写作给予的帮助。

Foundation item: The project was financially supported by Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. BK2004217); National Natural Science Foundation of China (No. 30571471)

Received date: 2005-10-02; **Accepted date:** 2006-08-20

Biography: WU Xiao-Qin, Ph. D., Professor, mainly engaged in the forest microbiology and plant pathology.

and EG were greater in developing mycorrhizae with *P. massoniana* and *P. thunbergii*, but 505 and HX only had greater abilities in developing mycorrhizae with *P. massoniana*. The ability of Pt₁ was the worst, because it had low infection rates and indexes with the seedlings of three pine species. Among the seedlings of three pine species, *P. massoniana* was the best in mycorrhization, followed by *P. thunbergii* and *P. elliotii* in a descending order.

Key words: ectomycorrhizal fungi; infection indexes; mycorrhization; pine seedlings

松属 (*Pinus* spp.) 树种是典型的外生菌根营养型树种,在自然条件下,如果缺乏外生菌根菌,松树则生长不良甚至不生长。尤其在我国的用于林业生产的土地多半是土壤贫瘠,水土流失严重的荒山荒地。在这样的土壤中很少或几乎没有菌根真菌的存在^[1],在生产中常常出现松苗变黄、生长不良甚至大量死亡的现象^[2]。因此,对松树幼苗实施菌根化,十分重要。菌根真菌不但可以促进宿主植物对营养物质的吸收、提高宿主植物对生物和非生物胁迫的抗性^[3,4],而且对于改善土壤结构、防止地力衰退都具有重要的作用。

马尾松、黑松和湿地松是我国南方的主要松种,也是重要的造林和用材树种。在松树菌根研究中,对马尾松菌根的研究报道较多^[2,5,6],而对黑松、湿地松菌根研究较少^[7]。虽然松树菌根菌资源丰富,但实际应用的种类不多,同时对多种松树都有良好效果的菌种更少,因此,本试验选用 7 株外生菌根真菌对马尾松、黑松和湿地松 3 种松苗进行接种,研究其菌根形成情况,从而筛选出与松苗形成菌根能力较强的菌种,以更好地促进松树生长,并为今后的菌根化育苗、造林技术提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试外生菌根菌

供试的外生菌根真菌共有 7 株,分别为:彩色豆马勃 (*Pisolithus tinctorius*, Pt₁)、彩色豆马勃 (*Pisolithus tinctorius*, Pt₂)、黄豹斑鹅膏 (*Amanita pantherina*, EG)、美味牛肝菌 (*Boletus speciosus*, 505)、华美牛肝菌 (*Boletus edulis*, 504)、紫金蜡蘑 (*Laccaria aemthystea*, ZI)、黄色须腹菌 (*Rhizopogon luteous*, HX)。

其中彩色豆马勃 (Pt₁)、黄色须腹菌和紫金蜡蘑为昆明植物研究所提供;华美牛肝菌,美味牛肝菌为中科院微生物研究所提供, Pt₂ 和 EG 采自南京紫金山松阔混交林。

1.2 供试树种

选用南方 3 个主要松种:湿地松 (*Pinus elliotii*)、马尾松 (*P. massoniana*) 和黑松 (*P. thunbergii*)。

1.3 菌种固体扩大培养

固体扩大培养基质为蛭石和棉子壳,以 10:1 的比例充分混合,高温高压灭菌 2h,冷却后拌入综合马铃薯 (PD) 营养液。湿度以手握基质,指缝中有水渗出但不滴下为准,拌好后分装在培养袋或罐头瓶中,再灭菌 30min。冷却后接入斜面菌种。放入恒温箱培养,待菌丝长满基质后使用。

1.4 苗木菌根化方法

1.4.1 播种接菌 播种基质采用河沙与蛭石,以 5:4 的比例混合,高温高压灭菌 2h,冷却后与培养好的固体菌剂混合,装盆。每盆含菌剂 200g。将经过催芽消毒的种子用镊子按一定间距播于盆中,每盆 20 粒种子,每处理 3 个重复,置于 25 °C 培养室光照培养,统一管理。对照不接菌,每盆仅混入 200g 与菌根真菌扩大培养相同的基质,其它处理相同。

1.4.2 芽苗截根移栽接菌

(1) 试验苗的培育 育苗的基质为河沙,高温高压灭菌 2h 后,装盆待用。选取饱满的湿地松、马尾松、黑松种子,经催芽消毒后播种于灭菌后的基质中,25 °C 光照培养,待出苗后 20d 左右种壳刚脱落时使用。

(2) 接菌方法 移栽基质与播种接菌相同,装入营养杯中。将培育好的芽苗从育苗盆中取出,用解剖刀截去 1/4 的主根后,移栽入营养杯,同时施入 10 g 左右固体菌剂,注意使菌剂包围着松苗的根部。对照不接菌,每棵苗根部仅接入 10g 与菌根真菌扩大培养相同的基质,其它处理方法相同。每处理 60 株苗。

1.5 苗木菌根化检查方法

接种 6 个月后检查菌根形成情况。在接种苗中每处理随机抽取 10 株苗,观测菌根感染率和感染指数,菌根感染指数按每株苗随机选取 5 个长 1cm 的根段,共计 50 个根段,按下列标准进行分级及统计;菌根感染率以株为单位计算。

菌根分级标准 0 级:无感染根段;1 级:感染根段在 10 %以下;2 级:感染根段在 11 %~30 %;
3 级:感染根段在 31 %~50 %;4 级:感染根段在 50 %以上

$$\text{菌根感染率} = \frac{\text{感染菌根株数}}{\text{抽查株数}} \times 100\%$$

1.6 外生菌根表面特征观察

观察菌根的形态、颜色,以及菌丝套、外延菌丝等特征。

2 结果与分析

2.1 不同菌根菌与 3 种松苗形成的菌根外部形态比较

松苗接菌 6 个月后,其根部形成的菌根明显比其它小根粗,且在颜色和形态上也与其它小根有区别。同一种菌根菌与不同松种形成的菌根颜色基本相同,形态有棒状、二叉分枝状和多叉分枝状三种(图 1),但在比例上有所不同,对照苗根见图 2。棒状菌根数量相对较少,以二叉分枝状和多叉分枝状为主。在 7 种菌根菌中,504 和 EG 与 3 种松树形成的菌根都以二叉状和多叉状为主(图 3a);505 在马尾松和黑松上形成以二叉和多叉分枝为主的菌根,而在湿地松上则以二叉状为主,多叉分枝较少见;Pt₁ 和 Pt₂ 与 3 种松苗形成的菌根也有差别,Pt₁ 在 3 种松苗上均形成以二叉状为主的菌根(图 3b),而 Pt₂ 在 3 种松苗上均形成以二叉状和多叉状为主的菌根(图 3c),且多叉分枝多于二叉分枝,菌根较粗;HX 在马尾松和湿地松上形成以二叉和多叉分枝为主的菌根,而在黑松上多叉分枝很少,以二叉分枝为主(图 3d)。ZJ 在湿地松上形成的菌根以棒状和二叉状为主(图 3e),而在马尾松和黑松上都以二叉状为主。对照松苗根上未发现菌根。大部分菌根在幼嫩时颜色较浅,成熟时则颜色加深。



图 1 松苗菌根的不同形态 (×10)

Fig. 1 Different ectomycorrhizal morphology of pine seedling (×10)

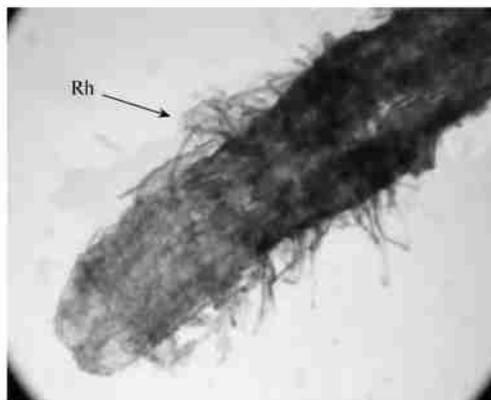


图 2 对照苗的根(Rh:根毛) (×20)

Fig. 2 The root of seedling in contrast (Rh:root hair) (×20)

2.2 不同菌根菌在松苗菌根表面的显微特征观察

显微观察发现:不同形态的菌根上根毛很少或已经消失(图 1),而对照根上根毛较多(图 2)。菌根表面有纵横交错的菌丝,但菌丝包裹的紧密程度因菌种的不同而有所不同,而与树种的关系不大。Pt₂ 形成的菌根其表面菌丝厚且紧密(图 4a),已看不到根表皮,504(图 4b)、EG、Pt₁ 形成的菌根其表面菌丝紧密程度中等,而 505、ZJ 和 HX 形成的菌根其表面菌丝则比较稀疏;菌根边缘可观察到外延菌丝,似乎代替了根毛的作用,外延菌丝的长短因菌种的不同而有差异,Pt₁、Pt₂(图 4c)、EG 形成的菌根外延菌丝较长,504、ZJ 形成的菌根外延菌丝较短,而 505、HX 形成的菌根外延菌丝极短,似刚毛状。另外在 Pt₂ 形成的菌根上还可可见菌索(图 4c),在外

延菌丝上观察到了锁状联合。

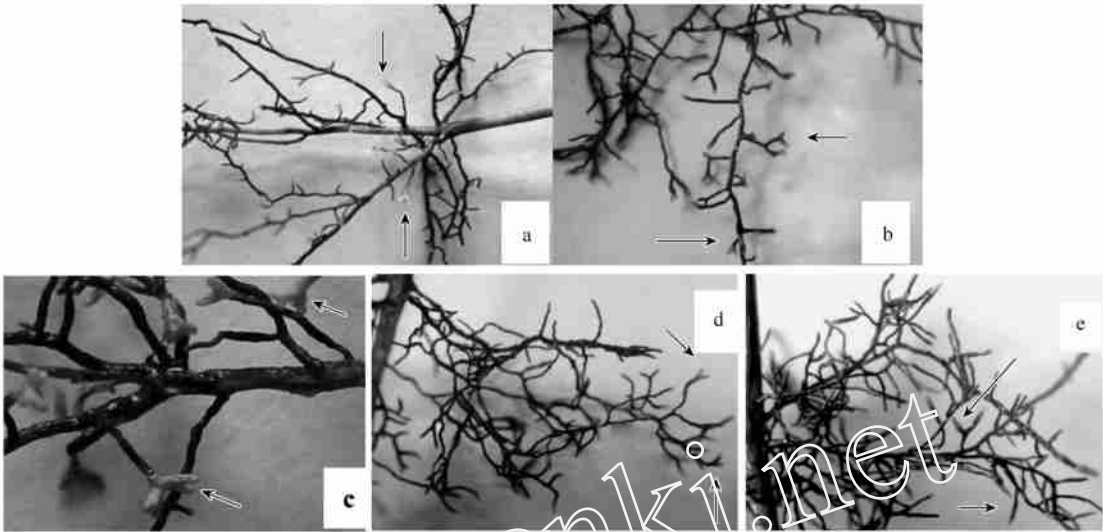


图3 不同菌根菌与松苗形成的菌根形态

Fig. 3 Mycorrhizae of Pine seedlings formed by different ectomycorrhizal fungi

a. 504 在湿地松上形成的菌根 Mycorrhizae of *Pinus elliottii* formed by *Boletus edulis*; b. Pt₁ 在马尾松上形成的菌根 Mycorrhizae of *P. massoniana* formed by *Pisolithus tinctorius* 1; c. Pt₂ 在黑松上形成的菌根 Mycorrhizae of *P. thunbergii* formed by *Pisolithus tinctorius*; d. HX 在黑松上形成的菌根 Mycorrhizae of *P. thunbergii* formed by *Rhizopogon luteous*; e. ZJ 在湿地松上形成的菌根 Mycorrhizae of *P. elliottii* formed by *Laccaria aemthystea*

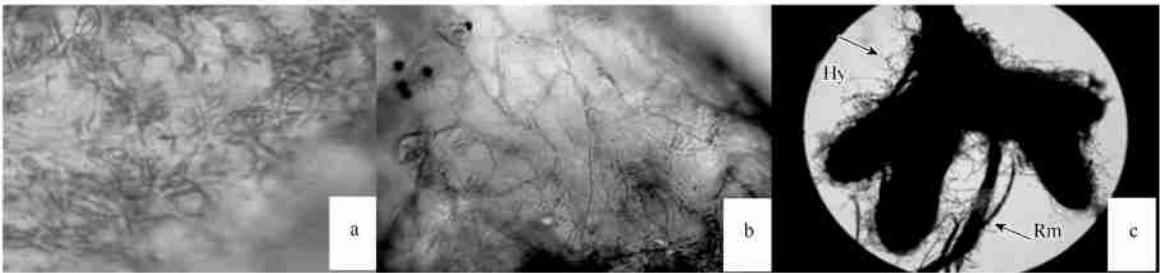


图4 松苗菌根上的菌丝

Fig. 4 The surface hyphae of mycorrhizae developed by ectomycorrhizal fungi with pine seedlings

a. Pt₂ 菌根的表面菌丝 ×200 The surface hyphae of Pt₂ ectomycorrhiza ×200; b. 504 菌根的表面菌丝 ×200 The surface hyphae of 504 ectomycorrhiza ×200; c. Pt₂ 在马尾松上形成的菌根 Hy:外延菌丝 Rm:菌索 ×10 Mycorrhize of *P. massoniana* formed by Pt₂ (Hy: extraradical hyphae Rm: rhzomorph) ×10

2.3 不同接菌方法对松苗菌根化的影响

由表 1 可知,不同的接种方法对松苗的菌根化状况有影响。马尾松播种时接菌的感染率和感染指数多数较低,其中最低的仅为 20 %和 20 ,最高为 100 %和 85 ;而截根接菌的感染率和感染指数普遍较高,最低的感染率也能达 50 %,比播种接菌的最低感染率高 1 倍以上,感染指数也较高,最高达 100 ,最低也能达 40 。特别是 Pt₂ 在马尾松上截根接种时,感染率和感染指数分别为 100 %和 100 ,而播种接菌时感染率和感染指数要低得多,仅为 60 %和 55 ;504 和 EG 的感染率在两种接菌方法中都能达 100 %,但截根接菌时的感染指数要高于播种接菌。与马尾松的情况类似,黑松和湿地松在截根接菌时的感染率和感染指数也普遍高于播种时接菌。

2.4 不同菌根菌与松苗之间菌根形成能力差异

芽苗截根移栽接种外生菌根菌 6 个月后,发现不同的外生菌根真菌与松苗形成菌根的能力并不一样。菌根菌在松苗上的菌根感染率和感染指数见图 5。

表 1 不同接菌方法下 3 种松苗的菌根感染率和感染指数

Table 1 The mycorrhizal infection rate and index of three pine seedlings with different inoculation methods							
菌株 Fungi	项目 Item	马尾松 <i>Pinus massoniana</i>		黑松 <i>P. thunbergii</i>		湿地松 <i>P. elliottii</i>	
		播种接菌 ^①	截根接菌 ^②	播种接菌	截根接菌	播种接菌	截根接菌
504	感染率 ^③ (%)	100	100	80	100	50	100
	感染指数 ^④	80	90	75	85	40	70
505	感染率(%)	40	80	40	60	20	50
	感染指数	35	75	35	50	20	40
Pt ₁	感染率(%)	20	50	40	40	40	40
	感染指数	20	40	30	40	25	35
Pt ₂	感染率(%)	60	100	60	100	30	40
	感染指数	55	100	40	100	20	15
EG	感染率(%)	100	100	70	100	40	50
	感染指数	85	100	60	80	30	45
HX	感染率(%)	40	80	20	50	50	60
	感染指数	40	50	20	30	40	45
ZJ	感染率(%)	60	60	40	50	30	40
	感染指数	60	45	40	45	35	35

①播种接菌 Inoculating ectomycorrhizal fungi when planting seeds; ②截根接菌 Cutting root apices of the young pine seedlings off and inoculating ectomycorrhizal fungi; ③感染率 Infection rate; ④感染指数 Infection index

由图 5 可见,504 形成菌根的能力最强,在 3 种松苗上的菌根感染率都达 100 %,感染指数最高可达 90 ,最低也能达 70 。Pt₂ 和 EG 与马尾松和黑松形成菌根的能力强,其菌根感染率都达 100 %,且 Pt₂ 在两种松树上的菌根感染指数都为 100 ;但这两种菌在湿地松上形成菌根的能力较差,菌根感染率分别为 40 %和 50 %,感染指数也较低,仅为 15 和 45 。505 和 HX 仅与马尾松形成菌根的能力较强,菌根感染率都达 80 %,感染指数分别为 75 和 50 ,但它们与黑松和湿地松形成菌根的能力都较差。Pt₁ 形成菌根的能力最差,在 3 种松苗上菌根感染率和感染指数都较低。

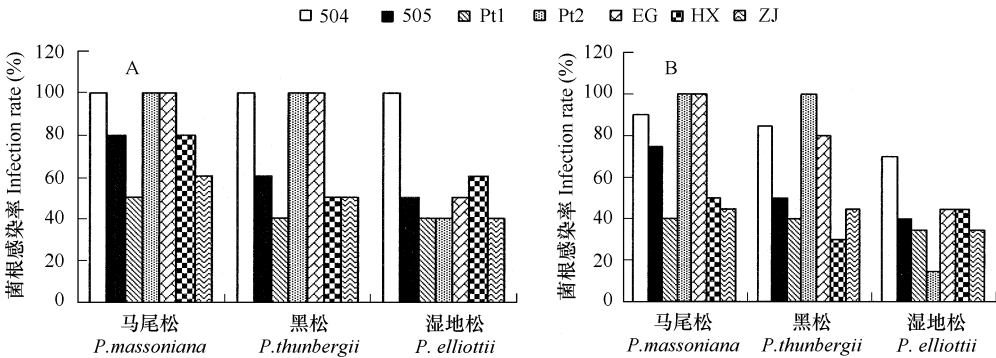


图 5 不同松苗的菌根化状况差异

Fig. 5 The difference of mycorrhization condition of different pine seedlings

A: 菌根感染率 Infection rate; B: 菌根感染指数 Infection index

就树种而言,在马尾松上有 3 种菌根菌(504、Pt₂、EG)的感染率达 100 %,其中两种菌的感染指数也达 100 (Pt₂、EG);其它 4 种菌的感染率在 50 %以上,感染指数也在 40 以上。在黑松上,504、Pt₂ 和 EG 的菌根感染率也达 100 %,但其它几种菌的感染率较在马尾松上的略低,感染指数也较低,最低为 30 ;而在湿地松上仅 504 的菌根感染率达 100 %,其它菌的感染率都在 60 %以下,感染指数也较低,多数都在 45 以下,最低仅为 15 ,菌根化状况相对较差。因此,在 3 种松苗中,马尾松的菌根化状况最好,其次为黑松,湿地松的菌根化状况较差。

3 结论与讨论

7 种外生菌根菌与马尾松、黑松和湿地松苗形成的菌根以二叉分枝状为主。显微观察发现,菌根上根毛

很少或已消失,菌根表面有纵横交错的菌丝包裹,并可观察到外延菌丝和菌索。菌根表面菌丝包裹的紧密程度和外延菌丝的长短都因菌种不同而存在差异,与树种的关系不大。这些结构的差异可能对宿主的生长与抗逆能力起到一定的作用,有待今后进一步研究。

不同的接种方法对菌根的形成有一定影响。曹旭东等^[8]进行了马尾松芽苗截根移栽菌根化容器育苗试验,结果,芽苗截根移栽菌根化能显著提高菌根化率。本试验各处理采用芽苗截根移栽接菌的菌根感染率和感染指数普遍高于播种时接菌,与前人研究结果一致。

各种外生菌根菌与3种松苗形成菌根的能力存在差异,且不同的松种根系菌根化状况也不同。马尾松菌根化状况最好,其次为黑松,湿地松菌根化状况较差。造成这种差异的原因可能为:(1)各种菌根菌与宿主的亲和力不同,即菌根菌对宿主有选择性。菌和树种亲和力强的,形成菌根状况就好,反之就差,因而可能造成各种菌根菌的接种效果不同。另外试验用的菌根菌菌株均来自国内,而湿地松是国外引进的树种,这是否是造成湿地松菌根形成情况不太理想的原因之一也有待进一步研究。(2)菌根菌的侵染力也是人工接种成败的关键,如果对接种对象缺乏侵染力,接种也不会成功^[9,10]。(3)各种菌根菌与宿主形成菌根的时间不同。菌根菌在土壤中扩展、侵入宿主根系、建立共生关系并以菌根形式表现出来,需要一定的时间,有的菌根菌形成菌根所需时间较长,可能在短时间内还未形成菌根。

References:

- [1] Griffiths R P, Baham J E, Caldwell B A. Soil solution chemistry of ectomycorrhizal Douglas fir rootlets, and some mycorrhizal fungi Plant and Soil, 1994, 26: 331~337.
- [2] Huang X M, Lou Y Z, Liu G L. A Study on Mycorrhization of Pine with Vegetative Inoculum of *Pisolithus tinctorius* in Nursery. Forest Research, 1995, 8(3): 258~265.
- [3] Harley J L. Introduction: the state of the art. In: Norris J R, Read D J & Varma A K eds. Methods in microbiology, vol. 23. Techniques for the study of mycorrhiza. London: Academic Press, 1991. 1~23.
- [4] Read D J. The mycorrhizal mycelium. In: Allen M. F., et al. eds. Mycorrhizal functioning: an integrative plant-fungal process. New York: Chapman & Hall, 1992. 102~133.
- [5] Chen L Q, Pei Z D. Selection of Mycorrhiza Fungi with Masson Pine and Their Inoculation Effects in the Nursery. Forest Research, 1992, 5(1): 65~70.
- [6] Zen F D, Zhou D X. Research on the mechanism of mycorrhizal formation induced by cutting root on the seedling of *Pinus massoniana*. Forest Science and Technology, 1996, (3): 28~30.
- [7] Gong M Q, Chen Y, Wang F Z, et al. Inoculate Effectiveness of Ectomycorrhizal Fungi on Foreign Pines. Forestry Science and Technology, 2002, 18(4): 7~10.
- [8] Cao X D, Luo F P. A Study on the Cultivation of the Masson Pine Seedlings in Containers by Inoculating Bacteriorhizae Fungus through Roots for Rootpruned Bud-Seedling Transplantation. Journal of Fujian College of Forestry, 1994, 14(2): 128~132.
- [9] Gong M Q, Chen Y L, Zhong C L, et al. Mycorrhizal Research and Application. Beijing: Chinese Forestry Press, 1997.
- [10] Meng F R, Shao J W, Qu S Y. Studies on the Effect of Original Artificial Inoculation of Ectomycorrhizal Fungi. Journal of North China Forestry University, 1995, 23(6): 9~12.

参考文献:

- [2] 花晓梅, 骆贻颢, 刘国龙. 松树 P₁ 菌剂育苗菌根化研究. 林业科学研究, 1995, 8(3): 258~265.
- [5] 陈连庆, 裴致达. 马尾松菌根真菌的筛选及圃地接种效应. 林业科学研究, 1992, 5(1): 65~70.
- [6] 曾繁地, 周东熊. 马尾松苗期截根诱发菌根的机制探讨. 林业科技通讯, 1996, (3): 28~30.
- [7] 弓明钦, 陈羽, 王凤珍, 等. 国外松菌根的接种效应研究. 广东林业科技, 2002, 18(4): 7~10.
- [8] 曹旭东, 罗发潘, 钱国钦. 马尾松芽苗截根移栽菌根化容器育苗研究. 福建林学院学报, 1994, 14(2): 128~132.
- [9] 弓明钦, 陈应龙, 仲崇禄, 等. 菌根研究及应用. 北京: 中国林业出版社, 1997.
- [10] 繁荣, 邵景文, 曲绍义, 等. 影响人工接种外生菌根效果的初步研究. 东北林业大学学报, 1995, 23(6): 9~12.