



研究报告

6种外生菌根真菌对西南桦幼苗的接种效应

邹慧 王春胜 陆俊锬 王欢 陈羽 曾杰*

中国林业科学研究院热带林业研究所 广东 广州 510520

摘要:【背景】西南桦是兼具内生、外生菌根的典型菌根营养型树种,菌根化育苗是其壮苗培育的有效措施。【目的】揭示外生菌根真菌对西南桦无性系幼苗生长和养分含量的影响,为其菌根化育苗筛选优良外生菌根真菌提供科学依据。【方法】以BY1、FB4、FB4⁺和A5等4个西南桦优良无性系为研究对象,选用土生空团菌(*Cenococcum geophilum*)、松乳菇(*Lactarius deliciosus*)、黄硬皮马勃(*Scleroderma flavidum*)、多根硬皮马勃(*S. polyrhizum*)、褐环乳牛肝菌(*Suillus luteus*)和红绒盖牛肝菌(*Xerocomus chrysenteron*) 6个外生菌根真菌进行盆栽接种试验,分析接种处理间及无性系间苗高、地径、生物量以及养分含量差异。【结果】6个菌种均能与西南桦无性系幼苗形成外生菌根共生体,接种多根硬皮马勃与黄硬皮马勃显著促进了幼苗生长和养分吸收($P<0.05$),说明其与幼苗的亲合力明显优于其它菌种。尽管菌根侵染率在4个无性系之间无显著差异($P\geq 0.05$),但各菌种对FB4、BY1幼苗生长的促进作用显著强于其它2个无性系。【结论】多根硬皮马勃和黄硬皮马勃可作为西南桦菌根化育苗的优选菌种。

关键词: 外生菌根真菌, 西南桦无性系, 生长表现, 养分含量

Effect of six ectomycorrhizal fungi inoculation on *Betula alnoides* clonal seedlings

ZOU Hui WANG Chun-Sheng LU Jun-Kun WANG Huan CHEN Yu ZENG Jie*

Research Institute of Tropical Forestry, CAF, Guangzhou, Guangdong 510520, China

Abstract: [Background] *Betula alnoides* is a typical mycorrhizal nutritional tree species with both arbuscular mycorrhizae and ectomycorrhizae, and mycorrhizal inoculation is an effective measure to grow its robust seedlings. [Objective] The objectives of this study are to reveal the effects of ectomycorrhizal fungi (ECMF) inoculation on seedling growth performance and nutrient contents of *B. alnoides* clones, and to screen suitable ectomycorrhizal fungi species as well as to provide scientific evidence for growing mycorrhizal seedlings of these species. [Methods] Seedling height, root collar diameter, biomass and nutrient contents of four *B. alnoides* clones, BY1, FB4, FB4⁺ and A5, were studied under inoculations of six ECMF including *Cenococcum geophilum*, *Lactarius deliciosus*, *Scleroderma flavidum*, *Scleroderma polyrhizum*, *Suillus luteus* and *Xerocomus chrysenteron* through a pot cultivation trial, and their differences were analyzed among different ECMF and clones. [Results] Seedling roots of four *B. alnoides* clones

Foundation item: National Key Research and Development Program of China (2016YFD0600604)

*Corresponding author: Tel: 86-20-87030271; E-mail: zengj69@caf.ac.cn

Received: 26-02-2018; Accepted: 28-05-2018; Published online: 29-09-2018

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFD0600604)

*通信作者: Tel: 020-87030271; E-mail: zengj69@caf.ac.cn

收稿日期: 2018-02-26; 接受日期: 2018-05-28; 网络首发日期: 2018-09-29

could be colonized by all six ECMF, in particular, *S. polyrhizum* and *S. flavidum* could remarkably promote growth and nutrient absorption of *B. alnoides* seedling after inoculation ($P < 0.05$), inferring that these two ECMF demonstrated stronger affinity for clonal seedlings than other ECMF. There were not significant differences in mycorrhizal colonization rate among four clones, whereas the positive effects of ECMF on seedling growth of FB4 and BY1 were remarkably better than those of the other two clones. **[Conclusion]** It is recommended that *S. polyrhizum* and *S. flavidum* be applied in growing mycorrhizal seedling of *B. alnoides*.

Keywords: Ectomycorrhizal fungi, *Betula alnoides* clones, Growth performance, Nutrient content

外生菌根真菌(Ectomycorrhizal fungi, ECMF)在自然界中普遍存在,通过与植物根系形成外生菌根共生体,从宿主植物获取有机营养维持生长和繁殖,同时通过外生菌根特有的菌套、哈蒂氏网、菌丝体等结构拓展植物根系的吸收空间,协助其吸收无机养分,从而促进植物生长,增强其抗逆能力,在生态系统经营管理中发挥重要作用^[1-2]。大量研究表明,接种 ECMF 能够显著提高植物养分含量,尤其是 P 含量^[3-5],因此 ECMF 被誉为“生物肥料”。

西南桦(*Betula alnoides* Buch. -Ham. ex D. Don)是我国西南和华南地区的一个乡土珍贵树种,其适应性较强,速生,材质优,用途广。西南桦木材纹理细致美观、心边材不明显、硬度适中易加工、干缩比小不易翘裂,作为单板贴面、木地板、家具以及乐器等制作材料深受市场青睐;而且西南桦是环境友好型树种,具有涵养水源、改善地力等生态服务功能,被广泛应用于该地区天然林保护工程、退耕还林还草工程以及珍贵用材林基地建设^[6]。西南桦兼具外生和内生菌根,是一个典型的菌根营养型树种^[7],菌根化育苗是其壮苗培育的一个重要手段。

菌根化育苗技术具有操作简单、效果显著、成本低等优点,作为一种集约高效的壮苗培育措施在林业生产中得以应用^[2,8-9]。ECMF 已应用到许多树种的菌根化育苗研究,如马尾松(*Pinus massoniana*)^[5]、红锥(*Castanopsis hystrix*)^[10]、木麻黄(*Casuarina equisetifolia*)^[11]、桉树(*Eucalypt* sp.)^[12]、杨树(*Populus* sp.)^[13]等,而对于西南桦,仅弓明钦等^[7]开展过外生菌根依赖性研究,尚未见 ECMF 应用于其菌根化育苗的报道。因此,本研究考虑 ECMF 菌种和无性系

2 个因素,按照裂区设计开展西南桦幼苗温室盆栽接种试验,旨在揭示 ECMF 菌种、无性系及其交互作用对幼苗生长和养分吸收的影响,筛选出优良菌种应用于西南桦壮苗培育实践。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 菌种

A5、BY1、FB4、FB4⁺等 4 个已得到规模推广的西南桦无性系参试,其组培苗由中国林业科学研究院热林中心提供。试验用苗均生长正常且高度约 5 cm。

6 个较易分离扩繁的 ECMF 菌种参试,其中,土生空团菌(*Cenococcum geophilum*, Cg)、松乳菇(*Lactarius deliciosus*, Ld)和褐环乳牛肝菌(*Suillus luteus*, Sl)来自西南大学资源与环境学院,多根硬皮马勃(*Scleroderma polyrhizum*, Sp)和红绒盖牛肝菌(*Xerocomus chrysenteron*, Xc)来自中国林业微生物菌种保藏管理中心,黄硬皮马勃(*Scleroderma flavidum*, Sf)由第一作者分离自热林中心西南桦林下真菌子实体。将这些菌种在 MMN 琼脂培养基上活化后,于 MMN 液体培养基扩大培养 10-15 d。当菌丝增值量超过 50 倍时,将菌液通过间歇匀浆制成菌剂备用。

1.1.2 培养基

改良 MMN 培养基(g/L): CaCl₂·2H₂O 0.05, 麦芽汁(12.7Be) 100 mL, NaCl 0.03, 葡萄糖 10.0, KH₂PO₄ 0.50, 琼脂 20.0, (NH₄)₂HPO₄ 0.25, 维生素 0.10, MgSO₄·7H₂O 0.15, FeCl₃ (1%溶液) 1.2 mL, pH 5.5。

1.1.3 主要试剂和仪器

FAA 固定液: 38%甲醛 5 mL, 冰醋酸 5 mL, 70%酒精 90 mL。Hoagland 营养液, 青岛海博生物技术有限公司。

压力蒸汽灭菌器, 上海申安医疗器械厂; Bluepard 恒温振荡器, 上海一恒科学仪器有限公司; 体视显微镜 SZX7、光学显微镜 BX51 和显微摄像装置 DP70, Olympus 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计

采用裂区试验设计。主区为 ECMF 接种处理 (6 个菌种和 1 个对照), 副区为无性系, 每个无性系 5 株幼苗, 4 个无性系, 3 次重复 (区组), 合计 420 株。

1.2.2 试验铺设与管理

盆栽接种试验于中国林业科学研究院热林所温室内进行。育苗基质为泥炭、蛭石、珍珠岩混合基质, 其比例为 3:2:2 (体积比), 高温高压灭菌 (100 kPa, 1 h) 后装塑料育苗盆 (13 cm×12.3 cm×11 cm)。2016 年 9 月按照上述试验设计铺设试验, 每个育苗盆移植 1 株西南桦幼苗。约 15 d 幼苗成活后按照常规方法进行 ECMF 接种, 每株幼苗于根部注入 5 mL 菌液, 对照为 5 mL 灭活的菌液。按照常规方法进行试验苗的管理: 用锡箔纸覆盖塑料盆以避免杂菌污染; 视天气情况称重浇去离子水, 使基质湿度保持在 60%–70%; 每周施 50 mL 20% 的 Hoagland 营养液^[14]; 为了减小边际效应, 定期变换幼苗位置, 即每隔 2 周挪动一次幼苗。

1.2.3 试验测定

接种 120 d 后, 分别利用直尺 (0.1 cm) 和数显游标卡尺 (0.01 mm) 测量所有幼苗高和地径。每个主小区内每个无性系随机抽取 3 株幼苗, 调查菌根侵染情况, 测定生物量和养分含量等。

菌根侵染情况采用划线交叉法统计^[15]。具体而言, 对于抽取的每株幼苗, 从其第一侧根处剪下根系, 用流水缓慢冲洗干净后, 随机剪取 50 条新鲜须根, 于带方格的培养皿内均匀铺开, 置于光学显微镜下观察统计其 ECMF 侵染情况, 计算菌根侵染

率; 根据后面测定的生物量计算菌根依赖性 (Mycorrhizal dependence, MD), 公式如下:

$MD (\%) = (\text{接种株平均干物质量} / \text{对照株平均干物质量}) \times 100$ 。

菌根依赖性按照 MD>300%、MD>200% 和 MD<200% 相应划分为强、中等和弱 (或无) 3 种水平^[16]。

生物量: 抽取的每株幼苗于其根茎部剪断, 将其地上和地下部分于 110 °C 杀青 2 h, 65 °C 烘干至恒重后, 称重并保留样品, 计算地上、地下部和总生物量以及根冠比。

养分含量: 利用上述样品进行养分测定。采用 H₂SO₄-H₂O₂ 扩散法 (LY/T 1269-1999) 测定全 N 含量, 钒钼黄比色法 (LY/T 1270-1999) 测定全 P 含量, 火焰光度法 (LY/T 1271-1999) 测定全 K 含量。按如下公式计算单株养分含量:

单株养分含量 (mg/株) = 单位干物质量养分含量 (mg/g) × 干物质量 (g/株)。

1.3 数据分析

运用 SPSS 22.0 软件进行试验数据的处理和分析, 采用一般线性模型进行方差分析和多重比较法 (LSD)。在方差分析之前, 百分率数据需进行反正弦转换。

2 结果与分析

方差分析结果显示 (表 1), ECMF 的差异对西南桦幼苗菌根侵染率、生长和养分含量的影响均达到极显著水平 ($P < 0.01$); 除菌根侵染率和地下部 N 含量外, 4 个无性系的生长与养分含量指标均存在显著 ($P < 0.05$) 或极显著差异; ECMF 和无性系之间的交互作用对幼苗根冠比和地上部 P 的含量影响显著。

2.1 菌根形成

西南桦无性系幼苗在接种 ECMF 120 d 后, 其根系均受到侵染。由图 1A、B 可以看出, 受侵染的根尖缩短变粗, 呈现单轴棒状、二叉分枝状等菌根形态。应用醋酸墨水染色法^[17]将这些根尖染色制片, 可观察到外生菌根的明显特征——菌套结构 (图 1C)。

表 1 无性系和 ECMF 接种处理间西南桦幼苗生长与养分指标的差异显著性(F 值)

Table 1 Significance (F -value) of difference in seedling growth and nutrition index among *Betula alnoides* clones (C) and ECMF inoculation treatments

Items	ECMF	C	ECMF×C
MCR	59.321**	1.491 ^{ns}	0.821 ^{ns}
H	34.358**	27.166**	1.160 ^{ns}
D	26.478**	39.051**	1.349 ^{ns}
SW	7.341**	15.271**	1.274 ^{ns}
RW	34.279**	13.328**	1.133 ^{ns}
TW	30.951**	20.817**	0.860 ^{ns}
R/S	5.783**	3.283**	1.843*
SN	6.311**	13.346**	0.707 ^{ns}
SP	27.852**	10.849**	1.856*
SK	3.183**	1.405 ^{ns}	0.855 ^{ns}
RN	9.412**	1.803*	1.033 ^{ns}
RP	36.498**	2.498**	0.873 ^{ns}
RK	8.051**	7.895**	1.368 ^{ns}

注: ECMF: 外生菌根真菌; MCR: 菌根侵染率(%); H: 苗高(cm); RCD: 地径(mm); SW: 地上部生物量(g); RW: 地下部生物量(g); TW: 总生物量(g); R/S: 根冠比; SN、SP 和 SK: 地上部 N、P、K 含量(mg/株); RN、RP 和 RK: 地下部 N、P、K 含量(mg/株)。ns, 不显著($P \geq 0.05$); *: 显著($P < 0.05$); **: 极显著($P < 0.01$)。

Note: ECMF: Ectomycorrhizal fungi; MCR: Mycorrhizal colonization rate (%); H: Seedling height (mm); RCD: Root collar diameter (mm); SW: Shoot weight (g); RW: Root weight (g); TW: Total weight (g); R/S: Root shoot ratio; SN, SP, SK: shoot contents of nitrogen, phosphorus and potassium (mg/plant); RN, RP and RK: root contents of nitrogen, phosphorus and potassium (mg/plant). ns: Not significant ($P \geq 0.05$), *: Significant ($P < 0.05$), and **: Quite significant ($P < 0.01$).

由表 2 可以看出, 各菌种在西南桦幼苗根系的定殖情况差异较大。以 Sp 与 Sf 接种处理的幼苗菌根侵染率为最高, 均超过 80%, 显著高于其它处理 ($P < 0.05$); Ld 与 Xc 接种处理居中(65%–70%); 而 Sl 与 Cg 接种处理最低, 小于 10%。各无性系幼苗接种同一菌种, 其菌根侵染率无显著差异($P \geq 0.05$)。分析各无性系的菌根依赖性可知, FB4、BY1 和 FB4⁺3 个无性系与 Sp 和 Sf 两个 ECMF 菌种的所有组合均属中等依赖性, 其余 ECMF 与无性系的组合为弱依赖性。

2.2 生长表现

由表 3 可知, ECMF 接种处理的西南桦无性系幼苗, 其生长表现均优于未接种处理(对照), 但接种效果因 ECMF 菌种而异。Sp 的接种效果略优于 Sf, 两者差异不显著($P \geq 0.05$), 但两者幼苗各生长指标均显著高于其它处理($P < 0.05$), Sp 接种处理的幼苗高、地径、地上部与地下部生物量、总生物量、根冠比分别为对照的 1.2、1.4、1.4、1.9、1.5、1.4 倍; Ld 与 Xc 的接种效果次之, 其幼苗生长表现仍显著优于对照; 而 Sl 与 Cg 的接种效果最差, 其幼苗各生长指标与对照差异不显著($P \geq 0.05$), 未显示出明显的促生效果。比较 4 个无性系的 ECMF 接种效果可以看出, FB4 与 BY1 的效果最好, 除根冠比较低之外, 其它各生长指标显著高于其余两个无性系, ECMF 接种对 A5 的促生效果最差, 但其根冠比显著高于上述两个无性系。

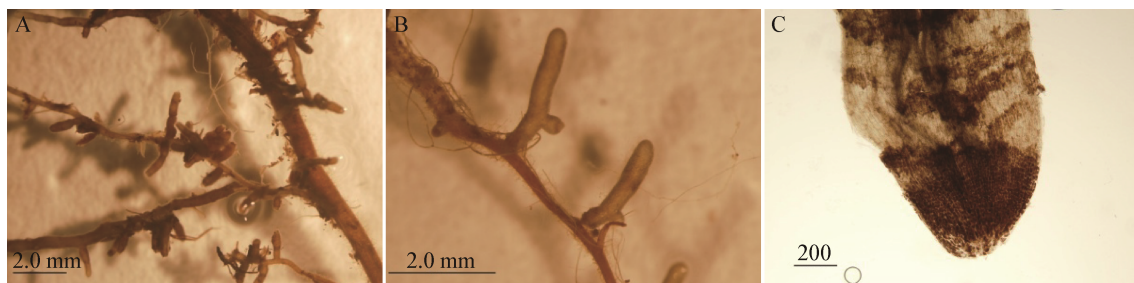


图 1 西南桦幼苗外生菌根

Figure 1 Ectomycorrhiza in *Betula alnoides* seedlings

注: A、B: 宏观照片; C: 显微照片。

Note: A and B: Macrographs; C: Micrograph.

表 2 西南桦无性系与 ECMF 不同组合的幼苗菌根侵染率(MCR)与菌根依赖性(MD)

Table 2 Seedling mycorrhizal colonization rate (MCR, %) and dependency (MD, %) of different combinations *Betula alnoides* clones and ECMF species

菌种 Species	FB4		BY1		FB4 ⁺		A5	
	MCR	MD	MCR	MD	MCR	MD	MCR	MD
Cg	8.5(1.2) ^d	124 W	7.7(1.8) ^d	117 W	7.6(1.8) ^d	106 W	7.6(1.7) ^d	121 W
Ld	70.4(3.3) ^b	173 W	70.3(3.0) ^b	175 W	70.1(3.0) ^b	148 W	70.4(3.7) ^b	157 W
Sf	83.7(2.4) ^a	215 M	83.7(2.3) ^a	221 M	83.5(2.9) ^a	205 M	85.3(2.8) ^a	189 W
Sp	85.2(2.9) ^a	258 M	85.2(3.1) ^a	235 M	84.5(3.1) ^a	208 M	85.3(2.6) ^a	197 W
Sl	4.4(0.4) ^c	113 W	4.2(0.4) ^c	109 W	3.1(0.2) ^c	103 W	2.7(0.8) ^c	110 W
Xc	65.9(2.7) ^c	156 W	65.1(2.9) ^c	162 W	65.0(2.9) ^c	143 W	65.6(2.8) ^c	151 W

注: 括号内数字为标准差; W 和 M 表示菌根依赖性等级, 分别为弱和中等; 菌种间小写字母不同表示差异显著($P<0.05$), 下同。

Note: Data in parentheses are standard deviations; W and M refer to grading of mycorrhizal dependence, and are weakness and middle levels, respectively; and different lowercase letter between species means significant difference ($P<0.05$), the same below.

表 3 西南桦无性系幼苗对 ECMF 接种的生长响应

Table 3 Seedling growth response to ECMF inoculation for *Betula alnoides* clones

处理 Treatments		H	D	SW	RW	TW	R/S
ECMF (n=36)	Cg	20.4(1.4) ^c	2.36(0.11) ^c	1.13(0.14) ^c	0.42(0.05) ^c	1.55(0.29) ^c	0.37(0.02) ^c
	Ld	23.2(2.1) ^b	2.77(0.20) ^b	1.22(0.14) ^b	0.52(0.05) ^b	1.74(0.28) ^b	0.44(0.03) ^b
	Sf	24.4(1.7) ^a	2.97(0.40) ^a	1.32(0.24) ^a	0.71(0.07) ^a	2.04(0.40) ^a	0.54(0.06) ^a
	Sp	24.7(2.2) ^a	3.07(0.45) ^a	1.37(0.27) ^a	0.72(0.09) ^a	2.09(0.45) ^a	0.53(0.06) ^a
	Sl	20.0(1.2) ^c	2.27(0.10) ^c	1.06(0.17) ^{cd}	0.40(0.04) ^c	1.46(0.31) ^{cd}	0.38(0.03) ^c
	Xc	22.0(0.9) ^b	2.69(0.16) ^b	1.20(0.16) ^b	0.50(0.05) ^b	1.69(0.32) ^b	0.42(0.03) ^b
	CK	19.8(1.0) ^c	2.26(0.16) ^c	1.00(0.13) ^d	0.38(0.03) ^c	1.38(0.26) ^d	0.38(0.03) ^c
无性系 Clone (n=63)	A5	21.0(1.3) ^c	2.32(0.15) ^c	0.97(0.17) ^c	0.46(0.10) ^b	1.46(0.25) ^d	0.49(0.08) ^a
	BY1	23.3(2.4) ^a	2.73(0.37) ^a	1.29(0.20) ^a	0.54(0.14) ^a	1.83(0.34) ^b	0.41(0.04) ^b
	FB4	23.4(2.2) ^a	2.80(0.39) ^a	1.34(0.15) ^a	0.57(0.13) ^a	1.91(0.38) ^a	0.42(0.05) ^b
	FB4 ⁺	22.1(2.2) ^b	2.55(0.29) ^b	1.14(0.13) ^b	0.52(0.14) ^a	1.65(0.34) ^c	0.47(0.10) ^a

注: 括号内数字为标准差; 处理间小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Data in parentheses are standard deviations; and different lowercase letter between treatments means significant difference ($P<0.05$).

2.3 养分状况

由表 4 可以看出, 各 ECMF 接种处理的西南桦幼苗养分含量均高于对照。Sp 和 Sf 接种处理间幼苗地上部与地下部的养分含量差异不显著 ($P\geq 0.05$), 两者显著高于其它处理 ($P<0.05$), Sp 处理略高于 Sf, 其幼苗地上部 N、P、K 含量分别为对照的 1.38、1.58 和 1.23 倍, 地下部 N、P、K 含量为对照的 1.79、2.20 和 1.65 倍, 地下部 N 占全株 N 含量的比例为对照的 1.20 倍, 地下部 P、K 比

例均为对照的 1.23 倍。Ld 与 Xc 接种处理的幼苗地上部与地下部养分含量也显著高于对照, 而 Sl 与 Cg 接种处理仅幼苗地下部 P 含量显著高于对照, 其余指标与对照差异不显著。由表 4 还可以看出, 4 个无性系间地上部养分含量差异明显高于地下部; 整体而言, FB4 与 BY1 的养分含量高于 FB4⁺ 和 A5, 其地上部养分含量与 FB4⁺ 和 A5 差异显著, 而地下部 P 含量与 A5 差异显著, K 含量与 FB4⁺ 和 A5 差异显著。

表 4 西南桦无性系幼苗对 ECMF 接种的养分响应

Table 4 Seedling nutritional response to ECMF inoculation for *Betula alnoides* clones

处理 Treatments	SN	SP	SK	RN	RP	RK
ECMF Cg	14.10(0.79) ^c	0.90(0.10) ^c	13.77(0.44) ^c	5.51(0.22) ^c	0.50(0.03) ^c	5.27(0.27) ^c
(n=36) Ld	16.56(0.83) ^b	1.04(0.09) ^b	15.52(0.40) ^b	6.97(0.25) ^b	0.60(0.02) ^b	6.85(0.30) ^b
Sf	18.52(0.71) ^a	1.26(0.11) ^a	16.20(0.24) ^a	8.72(0.27) ^a	0.89(0.04) ^a	7.95(0.32) ^a
Sp	18.67(0.72) ^a	1.28(0.15) ^a	16.44(0.27) ^a	8.93(0.36) ^a	0.90(0.04) ^a	8.02(0.26) ^a
Sl	13.71(0.64) ^c	0.83(0.07) ^c	13.51(0.35) ^c	5.06(0.31) ^c	0.48(0.03) ^c	5.18(0.33) ^c
Xc	15.82(0.68) ^b	1.00(0.06) ^b	14.68(0.33) ^b	6.76(0.30) ^b	0.56(0.03) ^b	6.43(0.31) ^b
CK	13.57(0.77) ^c	0.81(0.06) ^c	13.37(0.33) ^c	4.99(0.37) ^c	0.41(0.02) ^d	4.85(0.28) ^c
无性系 A5	14.54(0.63) ^c	0.88(0.10) ^c	13.29(0.35) ^d	6.69(0.21)	0.58(0.05) ^b	5.90(0.19) ^c
Clone BY1	16.50(0.75) ^a	1.07(0.07) ^{ab}	15.59(0.40) ^b	6.72(0.24)	0.64(0.03) ^a	6.58(0.34) ^a
(n=63) FB4	16.67(0.69) ^a	1.11(0.09) ^a	15.87(0.35) ^a	6.72(0.33)	0.66(0.03) ^a	6.67(0.35) ^a
FB4 ⁺	15.69(0.64) ^b	1.01(0.09) ^b	14.39(0.33) ^c	6.70(0.27)	0.61(0.04) ^{ab}	6.32(0.21) ^b

注：括号内数字为标准差；处理间小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

Notes: Data in parentheses are standard deviations; and different lowercase letter between treatments means significant difference ($P<0.05$).

3 讨论

大量研究表明, ECMF 菌种/菌株差异显著影响林木幼苗的促生效果和菌根依赖性^[5,18-21], 即使同一 ECMF 菌种的不同菌株, 其与宿主的亲和性也存在显著差异^[20-21]。本研究参试的 6 个 ECMF 菌种中, Ld、Xc、Sp、Sf 能与西南桦无性系幼苗形成良好的共生关系, 而 Sl、Cg 的亲合力较弱; FB4、BY1、FB4⁺分别与 Sp、Sf 组合的菌根依赖性为中等水平, 而无性系与菌种的其它组合菌根依赖性较弱, 说明不同 ECMF 菌种-无性系组合显示出菌根依赖性差异。弓明钦等^[7]的研究结果表明, 西南桦对 Sp、彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius*)的依赖性较高。由此可见, 西南桦种质材料与 ECMF 菌种/菌株具有明显的相互选择性, 两个研究案例间菌根依赖性差异可能与这种选择性有关, 因为两者间所用西南桦种质及菌种/菌株均存在差异。

对于同一树种而言, 其种质差异也影响幼苗菌根侵染状况和菌根促生效果。例如, 宋微等^[13]对 3 个杨树品系接种 12 个 ECMF 菌种, 发现同一菌种的菌根侵染率与促生效果因接种的杨树品系而异; Tagu 等^[22]利用美洲黑杨(*Populus deltoids*)和毛果杨(*Populus trichocarpa*)两个亲本及其子代无性系苗木

接种双色蜡蘑(*Laccaria bicolor*), 发现不同无性系间菌根侵染率变幅较大(10%–61%), 菌根侵染率以及地上和地下部干重因无性系而异。本研究与上述案例相同之处在于接种 ECMF 对于西南桦幼苗的促生效果也因无性系而异, 也有不同之处, 即菌根侵染率在无性系间无显著差异。

ECMF 对植物生长的促进作用与其增强宿主的养分吸收能力密切相关^[23], 宿主通过外生菌根极大地扩展了其根系的吸收面积和范围^[24-25]。在本研究中, 接种 Sp、Sf、Ld 和 Xc 的幼苗, 其地上和地下部 N、P、K 含量均显著增加, 与前人研究结果一致^[3-5]。其原因可以从 3 个方面进行解释: (1) 合适的 ECMF 不仅可以增强宿主根系吸收无机氮的能力, 还能促进有机氮矿化而被植物直接利用^[26], Jargeat 等^[27]从分子水平研究发现, 宿主植物全 N 的约 75%来自与其共生的 ECMF 根外菌丝吸收的氮素; (2) ECMF 分泌的有机酸能够改善土壤 K 的有效性^[8], 而且外生菌根能够显著提高根系对于 K 离子的吸收速率^[9-10]; (3) ECMF 菌丝体分泌磷酸酶、有机酸等物质, 有助于改善土壤 P 的有效性, 将土壤中难溶性 P 解析为有效 P^[28-29]。Smith 等^[30]的研究表明, 具菌根的植物通过其共生真菌获取所有 P

素, 在本研究中, 外生菌根对西南桦幼苗 P 素吸收的促进作用最为明显。本研究还发现, 无论幼苗接种 ECMF 与否, 其养分含量均为地下部低于地上部, 但是接种 ECMF 能够显著增加地下部的养分分配。王艺等^[5]对马尾松幼苗接种 7 种不同的 ECMF 菌株, 发现接种处理能显著提高宿主矿质养分的总含量, 不同元素在根、茎、叶中的分配比例因菌株的不同而存在显著差异; 但也有研究发现, 马尾松幼苗因菌根化反而减少了 N、P、K 在根部的分配比例^[20], 由此可见, 养分在宿主体内的分配可能与树种、菌种的差异有关。

4 结论

综上所述, 参试的 4 个西南桦无性系间幼苗 ECMF 侵染率差异不显著($P \geq 0.05$), 但是其生长、地上部养分含量、地下部 P 与 K 含量差异显著($P < 0.05$)。6 个菌种处理间侵染率、促生效果以及幼苗养分含量差异显著。接种多根硬皮马勃和黄硬皮马勃的效果最为明显, 建议在未来西南桦菌根化育苗实践中予以应用。

REFERENCES

- [1] Bojarczuk K, Kieliszewska-Rokicka B. Effect of ectomycorrhiza on Cu and Pb accumulation in leaves and roots of silver birch (*Betula pendula* Roth.) seedlings grown in metal-contaminated soil[J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2010, 207(1/4): 227-240
- [2] Turjaman M, Santoso E, Susanto A, et al. Ectomycorrhizal fungi promote growth of *Shorea balangeran* in degraded peat swamp forests[J]. Wetlands Ecology and Management, 2011, 19(4): 331-339
- [3] Van Hees PAW, Rosling A, Essén S, et al. Oxalate and ferricrocin exudation by the extramatrical mycelium of an ectomycorrhizal fungus in symbiosis with *Pinus sylvestris*[J]. New Phytologist, 2006, 169(2): 367-378
- [4] Alvarez M, Huygens D, Fernandez C, et al. Effect of ectomycorrhizal colonization and drought on reactive oxygen species metabolism of *Nothofagus dombeyi* roots[J]. Tree Physiology, 2009, 29(8): 1047-1057
- [5] Wang Y, Ding GJ. Effects of ectomycorrhizal on growth, physiological characteristics and nutrition in *Pinus massoniana* seedlings[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Science Edition), 2013, 37(2): 97-102 (in Chinese)
王艺, 丁贵杰. 外生菌根对马尾松幼苗生长、生理特征和养分的影响[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2013, 37(2): 97-102
- [6] Zeng J, Guo WF, Zhao ZG, et al. Domestication of *Betula alnoides* in China: current status and perspectives[J]. Forest Research, 2006, 19 (3): 379-384 (in Chinese)
曾杰, 郭文福, 赵志刚, 等. 我国西南桦研究的回顾与展望[J]. 林业科学研究, 2006, 19(3): 379-384
- [7] Gong MQ, Huang FZ, Chen Y, et al. Mycorrhizal dependency and inoculant effects on the growth of *Betula alnoides* seedlings[J]. Forest Research, 2000, 13(1): 8-14 (in Chinese)
弓明钦, 王凤珍, 陈羽, 等. 西南桦对菌根的依赖性及其接种效应研究[J]. 林业科学研究, 2000, 13(1): 8-14
- [8] Sousa NR, Franco AR, Ramos MA, et al. Reforestation of burned stands: the effect of ectomycorrhizal fungi on *Pinus pinaster* establishment[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2011, 43(10): 2115-2120
- [9] Garcia K, Deltei A, Conéjero G, et al. Potassium nutrition of ectomycorrhizal *Pinus pinaster*: overexpression of the *Hebeloma cylindrosporum* HcTrk1 transporter affects the translocation of both K^+ and phosphorus in the host plant[J]. New Phytologist, 2014, 201(3): 951-960
- [10] Chen YL, Gong MQ, Chen Y, et al. Effects of inoculation with 11 ectomycorrhizal fungal isolates on growth and photosynthesis of *Castanopsis hystrix* saplings[J]. Forest Research, 2001, 14(5): 515-522 (in Chinese)
陈应龙, 弓明钦, 陈羽, 等. 外生菌根菌接种对红椎生长及光合作用的影响[J]. 林业科学研究, 2001, 14(5): 515-522
- [11] Zhang Y, Zhong CL, Chen Y, et al. The advance of *Casuarina symbiotic* microbe research[J]. Guangdong Forestry Science and Technology, 2006, 22(1): 70-75 (in Chinese)
张勇, 仲崇禄, 陈羽, 等. 木麻黄共生菌的研究进展[J]. 广东林业科技, 2006, 22(1): 70-75
- [12] Yuan L, Huang JG, Li XL, et al. Biomobilization of potassium from clay minerals by ectomycorrhizal fungi and eucalypt seedling roots[J]. Plant and Soil, 2004, 262(1/2): 351-361
- [13] Song W, Wu XQ, Ye JR. Screening elite ectomycorrhizal fungi for poplars in Jiangsu[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Science Edition), 2009, 33(2): 81-84 (in Chinese)
宋微, 吴小芹, 叶建仁. 江苏几种杨树优良外生菌根真菌的筛选[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2009, 33(2): 81-84
- [14] Chen N, Wang YS, Li XL, et al. Effects of nutrient solution strength on development of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Mycosystema, 2003, 22(3): 394-401 (in Chinese)
陈宁, 王幼珊, 李晓林, 等. 营养液强度对 AM 真菌生长发育的影响[J]. 菌物系统, 2003, 22(3): 394-401
- [15] Gong MQ, Chen YL, Zhong CL. Mycorrhizal Research and Application[M]. Beijing: China Forestry Press, 1997: 110 (in Chinese)
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: 110
- [16] Chen Y, Jiang QB, Zhong CL, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on seedling growth of *Chukrasia tabularis*[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2011, 47(5): 76-81 (in Chinese)
陈羽, 姜清彬, 仲崇禄, 等. 接种 AM 菌对麻楝不同种源苗

- 期的生长效应[J]. 林业科学, 2011, 47(5): 76-81
- [17] Sheng PP, Liu RJ, Li M. Methodological comparison of observation and colonization measurement of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Mycosystema, 2011, 30(4): 519-525 (in Chinese)
盛萍萍, 刘润进, 李敏. 丛枝菌根观察与侵染率测定方法的比较[J]. 菌物学报, 2011, 30(4): 519-525
- [18] Zhang XL, Zhang H, Zhang X, et al. Study on the effects of ectomycorrhizal preparation on seedling growth of *Pinus bungeana*[J]. Forest Research, 2005, 18(2): 133-136 (in Chinese)
张小龙, 张洪, 张香, 等. 外生菌根菌剂对白皮松幼苗生长效应的研究[J]. 林业科学研究, 2005, 18(2): 133-136
- [19] Zhang RQ, Tang M, Zhang HH. Effects of four ectomycorrhizal species on controlling damping off and promoting the growth of *Pinus tabulaeformis* seedlings[J]. Mycosystema, 2011, 30(5): 812-816 (in Chinese)
张茹琴, 唐明, 张海涵. 四种外生菌根真菌对油松幼苗的抗猝倒病和促生作用[J]. 菌物学报, 2011, 30(5): 812-816
- [20] Zhou ZZ, Chen Y, Liang KN, et al. Screening study of mycorrhizal efficiently symbiosis of edible *Russula fungus* with host tree species[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 2011, 31(2): 7-14 (in Chinese)
周再知, 陈羽, 梁坤南, 等. 乡土用材树种与红菇菌根菌高效共生体的筛选研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2011, 31(2): 7-14
- [21] Jiang QB, Zhong CL, Chen Y, et al. Study on inoculating *Russula* fungi with *Pinus massoniana* seedling[J]. Journal of Central South University of Forestry and Technology, 2016, 36(8): 6-9,38 (in Chinese)
姜清彬, 仲崇祿, 陈羽, 等. 红菇菌根食用菌接种马尾松苗期的共生效应研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2016, 36(8): 6-9,38
- [22] Tagu D, Bastien C, Faivre-Rampant P, et al. Genetic analysis of phenotypic variation for ectomycorrhiza formation in an interspecific F1 poplar full-sib family[J]. Mycorrhiza, 2005, 15(2): 87-91
- [23] Hawkins BJ, Jones MD, Kranabetter JM. Ectomycorrhizal and tree seedling nitrogen nutrition in forest restoration[J]. New Forests, 2015, 46(5/6): 747-771
- [24] Kubish P, Hertel D, Leuschner C. Do ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal temperate tree species systematically differ in root order-related fine root morphology and biomass?[J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 64
- [25] Tapwal A, Kumar R, Borah D. Response of mycorrhizal inoculations on *Dipterocarpus retusus* seedlings in nursery[J]. Current Life Sciences, 2016, 2(1): 1-8
- [26] Liu RJ, Chen YL. Mycorrhizology[M]. Beijing: Science Press, 2007 (in Chinese)
刘润进, 陈应龙. 菌根学[M]. 北京: 科学出版社, 2007
- [27] Jargeat P, Rekanalt D, Verner MC, et al. Characterisation and expression analysis of a nitrate transporter and nitrite reductase genes, two members of a gene cluster for nitrate assimilation from the symbiotic basidiomycete *Hebeloma cylindrosporum*[J]. Current Genetics, 2003, 43(3): 199-205
- [28] Cao QQ, Feng YQ, Liu YF, et al. Advance of plant phosphorus uptake improved by mycorrhiza fungi[J]. Chinese Bulletin of Life Science, 2011, 23(4): 407-413 (in Chinese)
曹庆芹, 冯永庆, 刘玉芬, 等. 菌根真菌促进植物磷吸收研究进展[J]. 生命科学, 2011, 23(4): 407-413
- [29] Yang HJ, Li Y, Huang JG. Effect of phosphorus supply and signal inhibitors on oxalate efflux in ectomycorrhizal fungi[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2015, 55(6): 788-794 (in Chinese)
杨红军, 李勇, 黄建国. 磷与信号抑制剂对外生菌根真菌分泌草酸的调控作用[J]. 微生物学报, 2015, 55(6): 788-794
- [30] Smith SE, Smith FA, Jakobsen I. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses[J]. Plant Physiology, 2003, 133(1): 16-20