

红皮云杉外生菌根菌对苗木生长的影响

宋瑞清 吴 克

(东北林业大学林学院 哈尔滨 150040)

摘 要 2000 年 8~10 月自大兴安岭新林林业局和兴隆林业局采集各种林型下的伞菌担子果,进行分离培养、纯化,获得 36 个菌株。经对红皮云杉室内接种试验获得 6 个可与红皮云杉共生形成外生菌根的菌株。室内接种试验结果表明,在红皮云杉播种苗上接种菌根菌的时期应在出苗后 30d 左右。菌根形成的适宜温度为 20℃ 左右。筛选得到的 6 个菌株对红皮云杉幼苗的生长有明显的促进作用。接种林地菇 (*Agaricus silvaticus*) 031 和 L15 菌株的苗木叶绿素 a 含量明显高于其他菌株和对照;接种 009、004、林地菇和 L15 菌株的苗木叶绿素 b 含量也明显高于其他菌株和对照。接种林地菇、L15、031、009 和 025 菌株的苗木与对照苗木在重量上差异显著;其中接种林地菇和 L15 菌株的苗木比对照苗木分别增加了 19.23% 和 23.08%。接种 6 个菌株的苗木与对照苗木高度比较差异非常显著,接种林地菇和 L15 菌株的苗木与对照相比分别增加 17.83% 和 16.37%。室外接种结果表明,接种林地菇的苗木高生长最好,接种 70d 高于对照 9.24%。接种菌株 L15 的苗木地径生长最好,接种 70d 高于对照 9.92%。接种菌株 009 的苗木侧根数最多,接种 70d 高于对照 51.91%。接种菌株 009 的苗木主根最长,接种 70d 高于对照 3.36%。而接种菌株 031 的苗木全株感染菌根率最高,接种 70d 高于对照 13.90%。接种菌株 031 的苗木光合作用最强,高于对照 20.02%。从几项主要的指标综合来看,菌株 L15、菌株 009 和菌株 031 是有潜在研究和应用价值的优良菌株。

关键词 红皮云杉 外生菌根 菌根菌

中图分类号: Q939.9 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209(2005)06-0910-05

云杉在我国东北主要包括红皮云杉 (*Picea koraiensis*) 和鱼鳞云杉 (*P. jezoensis*) 两种。二者主要分布于黑龙江省以及吉林和辽宁的东部山区,在朝鲜北部、原苏联远东地区也有分布,为红松与云杉混交林的主要组成树种,也是东北主要用材树种。云杉材质轻软,纹理通直,为建筑、航空、造纸及制造乐器等重要用材,树皮可提取栲胶,树干可割取树脂,为东北地区营造用材林的良好树种。云杉树姿优美,抗感染力强,又是城市观赏、绿化较佳的树种。因此,云杉是我国经济价值和生态价值均较高的树种之一。国内外对云杉从生物生态学特性、种群生态、群落组成、生态系统的结构和功能、生物多样性及遗传生态学等方面做了大量工作。有关云杉外生菌根的研究起步较晚,大量研究结果表明,云杉是生外生菌根的树种,云杉的生长发育及林分更新必须依赖于外生菌根的存在,外生菌根对其在自然状态下的生存至关重要。

目前,国内有关云杉外生菌根方面的研究尚少。云杉在其生长发育的各个阶段究竟与哪些外生菌根菌共生,与其共生的各种菌根菌对云杉生存、生长的

影响,各种立地条件下,不同年龄云杉的菌根类型,多样性的变化,潜在的外生菌根菌的人工接种对云杉幼苗的影响,以及云杉菌根化苗木造林后,菌根菌对各种立地条件的适应状况等都不清楚。这些问题的解决对于深入认识云杉的生物生态学特性,森林生态系统稳定性维持机制,云杉与其它树种间在时间和空间上的相互关系,选择适于云杉菌根化育苗用的优良外生菌根菌等都有极为重要的科学意义。

1 材料和方法

1.1 红皮云杉外生菌根真菌的野外采集和培养

2000 年 8~10 月在大兴安岭新林林业局和兴隆林业局采集各种红皮云杉林型下的伞菌子实体,进行分离培养、纯化。菌根菌的分离培养采用组织块分离和孢子分离两种方法进行。液体菌剂制备:采用 MMN 液体培养基,对野外采集和分离培养的菌种进行液体培养,得到液体培养菌液。

1.2 云杉外生菌根真菌的室内合成

红皮云杉种子来源于内蒙古红花尔基。所用无菌土按草炭土与河沙为 1:1 的比例配制混合土,置

基金项目:黑龙江省自然科学基金项目(C2004-06)哈尔滨市科委科技攻关项目

作者简介:宋瑞清(1964-),女,博士,教授。主要研究方向为菌物开发及利用、林木病理学及植物病害防治等。Tel 86-451-82190232;

E-mail: songrq@public.hr.hl.cn

收稿日期: 2005-03-14, 修回日期: 2005-07-07

高温高压灭菌器中灭菌 2h。

1.2.1 种子处理 :将红皮云杉种子用 0.3% KMnO_4 消毒,清水冲洗,湿纱布包裹,置 25℃ 下。每天保证纱布湿润,直至出芽。

1.2.2 播种和接种 (1)播种、接种同时进行:将已发芽的种子播种于花盆中,再将液体菌种接种于种子上,覆土。置人工气候箱中培养,设 3 个温度梯度:15℃、20℃、25℃。出苗后每天检查菌根合成情况。每个温度梯度设 5 个重复。对照则接种无菌液体培养液。(2)出苗 1 个月后接种:出苗 1 个月后,在苗木之间打孔,将菌液置入孔中,使其能接触到苗木根系。定期检查菌根合成情况。设 3 个温度梯度:15℃、20℃、25℃。每个温度梯度设 5 个重复。对照接种无菌液体培养液。试验用花盆直径为 16cm,高 12cm。每盆装土高度 10cm,出苗后保证每盆 30 株苗。每盆接种菌液量 50mL。

1.3 室内生物测定和选优

选择接种后生长 70d 的苗木,进行生物测定及选优。

1.3.1 菌根侵染率测定 :外生菌根感染率的计测采用统计算法。将根样剪成 1cm 等长的根段,随机选取根样,每样 60 个根段。菌根感染率(%)=(感染菌根根段数/总根段数)×100%。

1.3.2 生物量测定 :取对照苗木和菌根化苗木各 20 株,分别测定苗木的高度。分别取 20 株苗木,放入 105℃ 的烘箱中,烘干至恒重,测定苗木生物量。

1.3.3 叶绿素测定 :采用分光光度计法。在波长 663nm 和 645nm 下测定光密度 A_{663} 和 A_{645} 。以非菌根化苗叶绿素含量的测定作对照,3 个重复。根据以下公式,计算各处理苗木的叶片叶绿素含量:

$$Ca = 12.72A_{663} - 2.59A_{645}$$

$$Cb = 22.88A_{645} - 4.67A_{663}$$

$$Ct = Ca + Cb = 20.29A_{645} + 8.05A_{663}$$
 其中,Ca、Cb、Ct 为叶绿素 a、b 和总的叶绿素浓度,单位为 mg/g;
 A_{663} 、 A_{645} 为叶绿素提取液在波长 663nm 和 645nm 下的光密度。

1.4 云杉外生菌根真菌的野外接种

试验地设在兴隆林业局和平经营所苗圃。圃地采用人工和机械灌溉相结合的方法,地势平坦,排水良好。供试的苗木为红皮云杉 3 年生移床苗。2002 年 6 月 30 日,根据通河县和平经营所的圃地中云杉(3 年生移床苗)的情况,采用在苗间开沟施用液体培养的菌剂进行接种,每沟施用菌剂 200mL。每个接种小区的面积 1m×1m,隔离带宽 0.5m×1m,苗床

长 20m。对照区施用无菌培养液。每菌种接种小区和对照区各设 3 个重复。

1.4.1 接种的观测 :在沟施后的 70d 调查一次,调查苗木的生长情况。采用对角线取样法,在接种区及对照区各采集 50 株苗木,进行苗木长势、苗高、地径、侵染率、干重等指标的测定。

1.4.2 光合作用的测定 :使用 CI-301PS 光合作用测定仪,测定苗木的光合作用。PAR 代表有效光合辐射($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$),P 代表净光合速率($\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$)。

2 结果

2.1 菌种的野外采集和培养

2000 年 8~10 月在大兴安岭新林林业局和兴隆林业局红皮云杉林下采集到各种伞菌子实体 70 余种,经分离培养、纯化,获得 36 个菌株。

2.2 红皮云杉外生菌根真菌菌种的室内筛选

2.2.1 播种同时进行接种的结果 :接种后 50d 内,所有 36 个菌株在 3 个温度梯度下均未与红皮云杉苗木形成菌根。

2.2.2 出苗 1 个月后进行接种的结果 :接种后 30~35d,20℃ 下有 6 个菌株与红皮云杉苗木形成菌根(各菌株名称及生物学将另文发表);15℃ 下有 2 个菌株与红皮云杉苗木形成菌根;25℃ 下只有 1 个菌株与红皮云杉苗木形成菌根;15℃ 及 25℃ 下形成菌根的菌株在 20℃ 下均与红皮云杉苗木形成菌根。

结果表明,红皮云杉苗木可与多种外生菌根菌形成菌根。播种苗接种外生菌根菌的时期应在出苗后 30d 左右,形成外生菌根的适宜温度为 20℃ 左右。

2.3 室内生物量测定

2.3.1 菌根侵染率测定 :试验结果表明,接种不同外生菌根真菌苗木菌根感染率不同。6 个可以形成菌根的菌株对苗木的感染率为 78.5%~90.1%。其中菌株 L15 的感染率最高,为 90.1%;菌株 004 的感染率最低,为 78.5%。其他 4 菌株感染率分别为:025 为 89.4%,林地菇 87.7%,菌株 031 为 86.3%,009 为 81.4%。

2.3.2 生物量测定 :接种各菌根菌菌株对苗木生物量影响的测定结果见表 1。从表 1 可以看出:接种不同菌株的苗木鲜重均有增加,比对照增加 9.6%~23.1%。与对照相比,菌株 L15 增加最多,增加 23.1%;菌株 004 增加最少,增加 9.6%。接种外生菌根菌的苗木在高度上比对照增加了 4.0%~17.8%。与对照相比,林地菇对高生长促进最好,高生长提高 17.8%;菌株 009 效果最小,仅增加 4.0%。

方差分析结果表明:接种林地菇、L15、031、009、025 的苗木与对照苗木在重量上差异显著(鲜重及干重);接种林地菇、031、L15、009、025 的苗木与对照苗木高度比较差异显著。与对照相比,接种林地菇的苗木其重量增加 19.2%,高度增加 17.8%;接种 L15 的苗木重量增加了 23.1%,高度增加 16.4%。从以上结果可看出,林地菇和菌株 L15 应为所筛选菌株中促生长效果较好的菌株。

表 1 接种各菌根菌菌株对苗木生物量的影响

Table 1 Biomass of the seedlings which inoculated ectomycorrhizal fungi

Strains	Fresh weight (g/per stock)	Dry weight (g/per stock)	Height/cm	Length of main root/cm
<i>Agaricus silvaticus</i>	0.062 *	0.042	10.44 *	6.48
025	0.059 *	0.039	9.46 *	6.08
L15	0.064 *	0.041	10.31 *	6.23
031	0.061 *	0.040	10.12 *	6.32
009	0.058 *	0.039	9.23 *	6.45
004	0.057	0.038	9.32	5.92
CK	0.052	0.036	8.86	5.23

2.3.3 叶绿素的测定:从表 2 可以看出,接种了菌根菌菌株的苗木叶绿素 a 含量明显增加,增幅在 7.1% ~ 24.3%。接种林地菇叶绿素 a 增加最多,可达 24.3%;其次为接种菌株 L15,提高 18.0%;而接种菌株 031 增加最少,仅为 7.1%。接种菌根菌的苗木叶绿素 b 含量也显著增加,增幅在 2.9% ~ 72.3%。接种菌株 L15 的苗木叶绿素 b 的含量增加最多,达 72.3%;其次为接种林地菇的苗木,增加 66.7%;而接种菌株 031 的苗木增加最少,仅增 2.93%。从叶绿素总含量水平增加来看,接种林地菇增加最多,为 35.3%;其次为接种菌株 L15,增加 31.9%;而接种菌株 031 增加最少,仅增加 6.0%。

表 2 接种不同菌株苗木叶绿素含量

Table 2 Chlorophyll contents of the seedlings which inoculated ectomycorrhizal fungi

Strain	Ca		Cb		Ca/Cb	Ct	Increasing rate /%
	Increasing rate/%	Increasing rate/%	Increasing rate/%	Increasing rate/%			
009	11.79cd	8.2	5.06e	34.6	2.33	16.85	14.9
L15	12.86e	18.02	6.48d	72.3	1.98	19.34	31.9
025	12.01d	10.2	4.95ce	31.7	2.43	16.96	15.7
004	11.72cd	7.5	4.98c	32.5	2.35	16.74	14.1
031	11.67c	7.1	3.87a	2.9	3.02	15.54	6.0
<i>Agaricus silvaticus</i>	13.55b	24.3	6.27b	66.7	2.16	19.83	35.3
CK	10.90a	----	3.76a	----	----	14.66	----

从以上结果可看出,接种了 6 个菌根菌菌株的苗木在叶绿素 a、叶绿素 b 及叶绿素总含量上均高

于对照苗木,说明接种菌根菌的苗木进行光合作用的能力增强,同时对散射光利用率较高。其中,接种林地菇及菌株 L15 的苗木效果更明显。

2.4 云杉外生菌根真菌菌种的野外接种

应用室内盆苗接种试验中可形成菌根的 6 个菌种中的 5 个较好的菌株进行野外圃地苗接种试验。野外接种菌根菌后 70d 苗木各项生长指标调查结果见表 3 和表 4。

表 3 接种菌根菌后 70d 的苗木及对照苗木的各项生长指标

Table 3 Growth index of the seedlings which inoculated ectomycorrhizal fungi for 70d

Strains	Height /cm	Collar diameter/cm	Number of branch root	Length of main root/cm	Infected rate/%
025	22.53	0.56	22.8	17.59	57.782
<i>Agaricus silvaticus</i>	24.94	0.56	16.2	18.82	65.25
009	22.99	0.64	23.9	19.84	50.43
L15	23.24	0.66	18.1	16.37	59.85
031	23.48	0.63	17.2	19.31	70.9
CK	22.83	0.60	15.7	19.19	62.25

表 4 接种菌根菌的苗木生长指标的增长率(%)

Table 4 Growth increasing rate of the seedlings which inoculated for 70d compared with contro(%)

Strains	Height	Collar diameter	Number of branch root	Length of main root	Infected rate
025	-1.303	-6.833	45.22	-8.364	-7.264
<i>Agaricus silvaticus</i>	9.242	-6.667	3.185	-1.928	4.819
009	0.683	6.583	51.911	3.361	-18.988
L15	1.813	9.917	14.968	-14.721	-3.855
031	2.825	4.417	9.554	0.625	13.896

从结果可以看出,接种林地菇的苗木高生长最好,高于对照 9.24%,其次为接种菌株 031、菌株 L15 及菌株 009 的苗木,分别高于对照 2.83%、1.81% 和 0.68%,而接种菌株 025 的苗木比对照低 1.30%。从地径生长来看,接种菌株 L15 最好,高于对照 9.92%,其次为接种菌株 009、菌株 031 的苗木,分别高于对照 6.58% 和 4.42%;而接种菌株 025 和林地菇的苗木均低于对照,分别低于对照 6.83% 和 6.67%。从苗木的侧根数来看,接种菌株 009 的苗木侧根数最多,高于对照 51.91%;其次为接种菌株 025、菌株 L15、菌株 031 和林地菇的苗木,分别高于对照 45.22%、14.97%、9.55% 和 3.19%。接种菌株 009 的苗木主根最长,高于对照 3.36%;其次为接种菌株 031 的苗木,其主根长高于对照 0.63%;而接种 L15、菌株 025 和林地菇的苗木,其主根长均低于对照,分别低于对照 14.72%、8.36% 和 1.93%。接种菌株 031 的苗木全株感染菌根率最高,高于对照

13.90% ,其次为接种林地菇的苗木 ,其全株感染菌根率高于对照 4.82% ,而接种菌株 009、菌株 025、菌株 L15 的苗木 ,其全株感染菌根率均低于对照 ,分别低于对照 19.00%、7.26% 和 3.86%。

表 5 的光合作用测定结果表明 ,除接种菌株 025 外 ,接种其余菌株光合作用均高于对照苗木。其中接种菌株 031 光合作用最强 ,高于对照苗木 20.023% ,其次为接种林地菇、菌株 L15 和菌株 009 的苗木 ,分别高于对照 13.82%、8.67% 和 0.82%。

表 5 接种不同菌株苗木净光合速率

Table 5 Photosynthetic rate of the seedlings which inoculated ectomycorrhizal fungi

Strains PAR(1200-1800)	025	<i>Agaricus sylvaticus</i>	009	L15	031	CK
$K(\mu\text{MolCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1})$	8.42	9.72	8.61	9.28	<u>10.25</u>	8.54
Increasing rate of $P(\mu\text{MolCO}_2\text{m}^{-2}\text{s}^{-1})$ /%	-1.405	13.817	0.820	8.665	<u>20.023</u>	

3 结论和讨论

从红皮云杉林中采集的伞菌子实体经分离纯化所获得的 36 个菌株中 ,有 6 个经接种试验表明可与红皮云杉苗木形成共生的外生菌根。红皮云杉播种苗接种外生菌根的适宜时期应在出苗后 30d 左右 ,接种并形成菌根的适宜温度在 20℃ 左右。室内外的研究试验均表明 ,所筛选获得的 6 个可与红皮云杉形成外生菌根的菌根菌对红皮云杉幼苗的生长均可起到明显的促进作用 ,其中林地菇对苗高的促进作用尤为明显 ,L15 对苗径有明显的促进作用 ,而 009 菌株则对侧根数和主根长有明显的促进作用。接种外生菌根菌可不同程度的增加红皮云杉叶中的叶绿素含量 ,其中又以 031 菌株接种的苗木光合速率提高的幅度最大。综合几项生长和生理指标 ,菌株 L15、009 和 031 应为较优良菌株 ,林地菇与其他菌株混用 ,效果可能会更好。关于这几个优良菌株

复合使用的效果以及对幼苗后期以及幼树生长的影响等尚需进一步深入研究分析。目前筛选获得的几株优良的红皮云杉外生菌根菌株对红皮云杉的定植生长有着良好的应用前景。

野外接种试验中 ,接种外生菌根菌后 70d 的苗木与对照苗木的菌根感染率相比 ,031 接种的苗木比对照高 9% ,林地菇接种的苗木比对照高 3% ,而 025、009、L15 接种的苗木均比对照低。但从生物量来看 ,接种外生菌根菌的苗木与对照苗木相比 ,均有不同程度增加。以上结果说明 ,一是外来菌根菌的接种抑制了土著菌根的形成 ,二是菌根的感染率与苗木的生物量间无正相关。

参 考 文 献

- [1] 裴致达,陈连庆,马尾松共生真菌(P.1)增殖培养条件.林业科学研究,1992,2(2):231-235.
- [2] 弓明钦,陈应龙,仲崇禄.菌根研究及应用.北京:中国林业出版社,1997.
- [3] 郭秀珍.林木菌根及应用技术.北京:中国林业出版社,1989.
- [4] 韩桂云,齐玉臣,刘忱,等.温度、pH对菌根真菌生长影响的研究.生态学杂志,1993,12(1):15-19.
- [5] 孟繁荣,邵景文,武继连.林木菌根学.哈尔滨:东北林业大学出版社,1996.
- [6] 小川真.高等植物的菌根.微生物通讯,1979,21-25.
- [7] 王铁英.菌根菌生长的营养条件和生理特性的研究.福建林业科技,1995,22(增刊):44-48.
- [8] 项存梯.林病研究法.哈尔滨:东北林业大学出版社,1991.
- [9] 中国森林编辑委员会.中国森林.(第三卷,阔叶林).北京:中国林业出版社,2000.
- [10] Boyle C D, Robertson W J, Salenius P O. Use of mycelial slurries of mycorrhizal fungi as inoculum for commercial tree seedling nurseries. *Canadian Journal of Forest Research*, 1987, 17: 1480-1486.
- [11] Mauperin C, Mortier F, Garbaye J, et al. Viability of an ectomycorrhizal inoculum produced in a liquid medium and entrapped in a calcium alginate gel. *Canadian Journal of Botany*, 1987, 65: 2326-2329.

Effect of ectomycorrhizae on the growth of *Picea koraiensis* seedlings

SONG Rui-qing* WU Ke

(College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: Basidioscarps of *Agaricales* in different *Picea koraiensis* forest plantations were collected during August-October, 2000. 36 isolaters of species of *Agaricales* were obtained by isolating and culturing to the basidioscarps. Through indoor inoculation test on seedlings of *Picea koraiensis*, 6 ectomycorrhizae fungi cultures were obtained from 36

isolaters. The inoculation results show that the period for ectomycorrhizae inoculation to 1-year seedlings of *Picea koraiensis* should be about 30 days after seedlings emerging, the suitable temperature for ectomycorrhizae forming is about 20°C. 6 ectomycorrhizae strains all have growth-promoting effect to the seedlings of *Picea koraiensis*. The contents of chlorophyll a of the seedlings inoculated strains of *Agaricus silvaticus*, 031 and L15 were significantly higher than other strains and control. The contents of chlorophyll b in the seedlings inoculated strains 009, 004, *Agaricus silvaticus* and L15 were significantly higher than other strains and control. The weights of seedlings which inoculated strains 009, 025, 031, *Agaricus silvaticus* and L15 were significantly different to control, the weight of seedlings inoculated strains of *Agaricus silvaticus* and L15 are 19.23% and 23.08% more than control, the heights of the seedlings inoculated 6 strains all have significant difference to control, the weight of seedlings inoculated strains of *Agaricus silvaticus* and L15 are 17.83% and 16.37% more than control. The results of outdoor inoculation show that the seedlings inoculated *Agaricus silvaticus* grow best on height, 9.25% more than control after inoculated 70 days; the seedlings inoculated strain L15 grow best on collar diameter, 9.92% more than control after inoculated 70 days; the lateral root numbers of seedlings inoculated strain 009 is largest, 51.91% more than control after inoculated 70 days; the main roots of seedlings inoculated strain 009 are longest, 3.36% more than control after inoculated 70 days; the ectomycorrhizae fungi infestation percentage of seedlings inoculated strain 031 is highest, 13.90% more than control after inoculated 70 days; the photosynthesis of seedlings inoculated strain 031 is more powerful, 20.02% more than control after inoculated 70 days. To sum up, strain 009, strain 031 and strain L15 should be fine strains to seedlings of *Picea koraiensis*.

Key words : *Picea koraiensis*, Ectomycorrhizae, Ectomycorrhizae fungi

Foundation item :Natural Science Fund Project of Heilongjiang Province(C2004-06); Programs for Science and Technology Development of Harbin Science and Technology Committee

* Corresponding author. Tel 86-451-82190232 ; E-mail :songrq@public.hr.hl.cn

Received date 03-14-2005

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>