

块菌人工栽培现状及菌根苗培育方法的研究进展

王溢洋^{1,2}, 张国庆^{*1}, 秦岭¹, 陈青君¹, 曹庆芹¹, 徐诗毅¹, 卢宇成¹

1 北京农学院植物科学技术学院, 北京 102206

2 新疆农业大学园艺学院, 新疆 乌鲁木齐 830052

王溢洋, 张国庆, 秦岭, 陈青君, 曹庆芹, 徐诗毅, 卢宇成. 块菌人工栽培现状及菌根苗培育方法的研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(3): 1245-1264.

WANG Yiyang, ZHANG Guoqing, QIN Ling, CHEN Qingjun, CAO Qingqin, XU Shiyi, LU Yucheng. Current status of artificial cultivation of truffles and research progress on preparation methods of seedlings with truffle mycorrhiza[J]. Microbiology China, 2023, 50(3): 1245-1264.

摘要: 松露(块菌)是名贵的地下真菌, 因其独特的香味和口感享誉全球, 具有重要的经济价值、食药价值和生态价值。块菌必须与宿主植物共生形成外生菌根后才能形成子实体(子囊果)。由于块菌具有较高的经济价值而野生块菌资源被严重破坏, 以块菌菌根苗制备技术为基础的人工栽培手段受到广泛关注。本文以块菌菌根苗培育为切入点, 阐述了块菌资源面临的较大威胁、人工栽培手段的进步和人工种植园的快速发展, 通过综述菌根苗培育前对共生组合的选择, 菌根苗培育时使用的基质、接种剂、培养方式、与其他生物间的互作, 以及菌根苗培育后进行检测的方法等研究进展, 为外生菌根食用菌的菌根苗培育技术和人工栽培推广提供参考。

关键词: 松露; 菌根合成; 共生关系; 基质

Current status of artificial cultivation of truffles and research progress on preparation methods of seedlings with truffle mycorrhiza

WANG Yiyang^{1,2}, ZHANG Guoqing^{*1}, QIN Ling¹, CHEN Qingjun¹, CAO Qingqin¹, XU Shiyi¹, LU Yucheng¹

1 College of Plant Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China

2 College of Horticulture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xinjiang, China

Abstract: Truffle is a precious underground fungus famous all over the world for its unique

资助项目: 现代农业产业技术体系北京市食用菌创新团队(BAIC05-2019); 国家重点研发计划(2018YFD1000605)

This work was supported by the Beijing Innovation Consortium of Agriculture Research System (BAIC05-2019) and the National Key Research and Development Program of China (2018YFD1000605).

*Corresponding author. E-mail: 20108103@bua.edu.cn

Received: 2022-08-24; Accepted: 2022-10-23; Published online: 2022-12-01

aroma and taste and has economic, medicinal, and ecological values. Truffles form ectomycorrhiza with host plants before forming fruiting bodies (ascocarps). Considering the high economic value and the serious destruction of wild resources, artificial cultivation imitating wild truffle growth by preparation of seedlings with truffle mycorrhiza has received extensive attention. Focusing on the cultivation of seedlings with truffle mycorrhiza, we elaborated on the threats to truffle resources, the progress in artificial cultivation methods, and the rapid development of plantations. Furthermore, we summarized the research progress in the selection of symbiotic combinations, substrates, inoculants, culture methods, interaction with other organisms, and methods of identification. This review will provide a reference for developing the methods for cultivating seedlings with mycorrhiza and promoting artificial cultivation of mycorrhizal edible fungi.

Keywords: truffles; mycorrhizal formation; symbiosis; substrate

松露(truffles)泛指生长于地下的真菌块状子实体, 主要包含 3 大类, 分别属于接合菌门(*Zygomycota*)、担子菌门(*Basidiomycota*)和子囊菌门(*Ascomycota*), 其中接合菌门的内囊霉目(*Endogonales*)内的种类被称为“豆块菌”, 担子菌类的如须腹菌(*Rhizopogon* Fr. emend. Tulasne)被称为“假块菌”, 而子囊菌门的块菌属(*Tuber* P. Micheli ex F.H. Wigg.)被称为“真块菌”^[1-2]。受产量、分布和经济价值等因素的影响, 块菌属在国内外受到广泛的关注和研究, 因此本文所述的松露专指块菌属真菌。目前对块菌属属内物种, 特别是中国块菌(*Tuber sinense* K. Tao & B. Liu)和印度块菌(*Tuber indicum* Cooke & Masee)的分布争议较大。本文有关中国及亚洲其他地区块菌的物种学名和分类标准参照范黎的系统分类学相关研究结果, 认同其“中国块菌的分布区限制在中国西南地区”和“不支持印度块菌和喜马拉雅块菌(*Tuber himalayense* Zhang & Minter)在中国的分布存在”的观点, 将采集自中国西南地区的印度块菌更正为中国块菌^[3-4]。

块菌具有重要的经济、食用和保健价值。成熟的松露具有大理石花纹、浓郁香味和独特的口

感, 深受国际食用菌市场的青睐^[5-6]。其中黑孢块菌(*Tuber melanosporum* Vittad.)和意大利白块菌(*Tuber magnatum* Picco)被誉为“地下黄金”, 在国际食用菌市场上价格昂贵, 价格可达 300–6000 欧元/kg, 而国内产出的中国块菌和攀枝花块菌(*Tuber panzhihuanense* X.J. Deng & Y. Wang)的价格在 300–3000 元/kg^[7-8]。块菌含有多种活性物质, 如块菌多糖、神经酰胺和 α -雄烷醇等, 能够抗病毒、增强免疫力, 具有调节内分泌、改善性功能等功效^[9-10]。

块菌是典型的外生菌根食用菌, 必须与植物形成菌根后通过共生交换得到生长必需的营养, 以完成自身生活史形成子实体(松露)^[11]。因此, 块菌的栽培方式与平菇等腐生真菌有着本质区别^[12-13]。目前块菌来源于对野生资源和人工栽培资源的采集。在自然环境中, 块菌完成生活史并产生松露通常需要 7–10 年, 而通过人工栽培能将块菌的生产周期缩短到 3–5 年^[14]。块菌人工栽培的第一步是培育块菌菌根苗, 通常采用孢子悬液接种无菌根的树苗, 经过一段时间的培养后检查菌根形成情况, 然后将合格的块菌菌根苗移植到野外栽培, 建立块菌种植园并辅以人工管理。块菌种植园的

建立扩大了块菌的栽培范围, 缓解了块菌资源被破坏的局面。

块菌菌根苗培育是进行人工栽培、保护块菌种质资源、提高产量的重要手段。2017年, 张笑萍等^[15]综述了块菌的侵染机理、菌根培育方法、影响块菌菌根合成的因素等方面的研究进展, 并总结了当时块菌菌根培育技术的研究状况和热点问题。近年来, 随着研究热度的增加和高通量测序等新技术的应用, 块菌资源的保护受到重视, 新的块菌共生组合被挖掘, 多种块菌苗培育方法被开发和应用, 以及在块菌与其他微生物的互作等方面取得了重要进展, 但缺乏系统总结和归纳。因此, 本文从块菌资源现状、人工栽培历史、块菌共生关系、菌根苗制备方法等方面进行综述, 以为块菌菌根苗培育和块菌资源保护研究提供参考。

1 块菌的资源现状及人工栽培史

1.1 野生块菌资源现状

块菌属共有 160 余种, 在我国分布的有 80 多种, 主要分布于西南地区的云南和四川, 在东北、华北、西北等地也有分布, 主要的黑块菌品种有中国块菌、台湾块菌(*Tuber formosanum* H.D. Hu & Y. Wang)、易贡块菌(*Tuber yigongense* L. Fan & W.P. Xiong)、拟喜马拉雅块菌(*Tuber pseudohimalayense* G. Moreno *et al.*)等, 白块菌品种有攀枝花块菌^[3-4,16]。白块菌较黑块菌而言产量和分布范围更小, 经济价值更高。中国块菌作为我国最重要的野生和栽培品种, 其外观和味道与黑孢块菌相似, 因此常用于出口。欧洲是块菌的主要消费国, 主产的块菌是黑孢块菌、意大利白块菌、波氏块菌(*Tuber borchii* Vittad.)、大孢块菌(*Tuber macrosporum* Vittad.)和夏块菌(*Tuber aestivum* Vittad.), 主要分布在法国、意大利和西班牙等地^[3,17]。目前, 中国的块菌产量主

要依靠对野生资源的采集, 而欧洲则主要依靠种植园中的人工栽培^[15,18]。

野生块菌资源的产量十分有限, 较高的经济价值滋生了“掠夺式”采挖的现象。例如, 一些块菌菌塘被反复搜索, 导致产量急速下降, 还有一部分块菌产地的生态环境遭到严重破坏, 很多采集地已无块菌可采^[19-20]。块菌的成熟期多集中在冬季, 过早采挖幼嫩未成熟的块菌也是导致块菌产量和品质下降的重要原因^[6,21]。2018年发布的《中国生物多样性红色名录——大型真菌卷》提出, 会东块菌(*Tuber huidongense* Y. Wang)、印度块菌(实为中国块菌)、攀枝花块菌和中华夏块菌(*Tuber sinoaestivum* J.P. Zhang & P.G. Liu) 4个物种被评为易危, 台湾块菌、中华白块菌 *Tuber sinoalbidum* L. Fan & J.Z. Cao 等 19种块菌属物种被评为近危^[16]。近年来, 人们日益重视对块菌资源的保护, 各地先后出台了多项保护政策和措施, 如云南省颁布了《云南省野生菌资源保护办法》。各项保护措施的核心内容是进一步规范块菌的采挖行为, 如划定块菌禁采期、禁止采集和收售不成熟块菌、保护菌塘等。

1.2 块菌人工栽培史

块菌人工栽培的核心是菌根苗培育技术。起初人们发现佩里戈尔黑松露(Périgord black truffle), 即黑孢块菌, 总是在橡树根部附近产出, 1808年, 法国人约瑟夫·塔隆(Joseph Talon)将橡子种子种到产出松露的橡树附近, 当这些新种的橡树产出黑松露之后, 约瑟夫将橡树苗移栽到自己的种植园, 多年后种植园产出了佩里戈尔黑松露^[22]。进入 20 世纪后, 基于菌根合成的块菌菌根苗培育技术在法国和意大利取得了较快的发展。20 世纪 60 年代末, 布鲁诺·法西(Bruno Fassi)、安娜·丰塔纳(Anna Fontana)和马里奥·帕伦佐纳(Mario Palenzona)首次在人工

控制条件下合成了块菌外生菌根,证实了块菌是一种外生菌根真菌并与松树、杨树、榛树等形成共生关系^[18]。至此,块菌菌根苗培育技术基本成型,使得块菌的驯化和栽培水平前进了一大步。1973年,Agri-truffe公司率先在法国农业科学研究院的许可下进行块菌苗的商业化制备,1996年Robin nursery公司也获得了块菌苗制备的技术许可,两家公司每年销售和生产的块菌苗超过50万株^[18]。目前,黑孢块菌、意大利白块菌、勃良第块菌(*Tuber uncinatum* Chatin)等都实现了菌根苗的商业化生产^[13]。法国超过80%的黑孢块菌产自种植园且产量稳定,实现了商业化生产,但受到全球气候和降水变化的影响,未来的块菌生产也不容乐观^[18]。块菌菌根苗培育技术的发展促进了块菌在全球的分布和扩散。块菌不仅在本土分布的国家进行了人工栽培,在非自然产区(如美国、澳大利亚、新西兰等)也栽培成功^[23]。

我国的块菌人工栽培研究起步较晚。2002年后,陈应龙^[24]和弓明钦等^[25]先后报道了黑孢块菌菌根苗培育的成果。2003年,大陆企业与台商联合在贵州省创建了块菌林,5年后产出了黑孢块菌,这是块菌首次在国内栽培成功的案例^[26-27]。2008年5月,刘培贵等^[28]在昆明也建立了的块菌种植基地,4年后产出了黑块菌。目前,我国科学家成功培育了中国块菌、黑孢块菌、夏块菌、攀枝花块菌等的菌根苗,并在云南、四川和贵州多地建立了块菌种植园,其中一部分种植园已经实现了块菌的产出,但仍不具备规模化的产量^[29-30]。2020年以来块菌人工种植产业快速发展,云南省计划建立多个松露仿生栽培示范基地,山西省招商引资建设万亩松露种植基地,贵州省将建设以黑松露为主的全球最大的菌根生态种植示范点和交易市场。块菌种植园和

示范基地的建立对块菌的资源保护和开发、菌根苗生产及菌根食用菌人工栽培具有重要的推广和示范价值。

2 块菌与宿主植物的共生关系

块菌菌根苗培育的第一步是确定栽培的块菌品种。不同品种的块菌对宿主树种表现出不同的专一性和选择性。国内外学者对不同的块菌与不同宿主植物的组合进行了大量研究(表1)。块菌通常能与桦木科(*Betulaceae*)、壳斗科(*Fagaceae*)、胡桃科(*Juglandaceae*)、松科(*Pinaceae*)、杨柳科(*Salicaceae*)、椴树科(*Tiliaceae*)等森林系统的建群树种形成典型的互惠共生的外生菌根。在黑块菌中黑孢块菌、中国块菌和夏块菌是国内外主要培育品种,它们能与大多数上述树种在pH广泛的多种基质中形成稳定的菌根。在白块菌中,意大利白块菌和波氏块菌是主要的人工栽培品种,近年来我国四川等地攀枝花块菌人工栽培也取得了重要进展,获得了其菌根苗。

块菌与宿主植物的共生关系,是决定块菌成功栽培的关键。目前的研究已经证实,中国块菌能与壳斗科的板栗、槲栎、锥连栎,松科的云南松、华山松、思茅松,杨柳科的圆叶杨和胡桃科的化香树、美国山核桃等形成菌根,并能够人工培育菌根苗(表1)。其中,化香树是我国的本土树种,苏开美等^[59]首次证实其是中国块菌的宿主植物。黑孢块菌能与桦木科的意大利桤木、欧洲榛、平榛,壳斗科的板栗、鬃蕨锥、栓皮栎、高山栎、麻栎,松科的大西洋雪松、喜马拉雅雪松、地中海松、海岸松、北美乔松、樟子松、云南松、马尾松、华山松,杨柳科的银白杨、黄花柳和胡桃科的山核桃等形成菌根,并能够人工培育菌根苗(表1)。

表 1 常见的块菌及其宿主树种

Table 1 Examples of hosts reported for tuber species

种属 Taxonomy	中国块菌 <i>T. sinense</i>	黑孢块菌 <i>T. melanosporum</i>	意大利白块菌 <i>T. magnatum</i>	波氏块菌 <i>T. borchii</i>	夏块菌 <i>T. aestivum</i>	大孢块菌 <i>T. macrosporum</i>	参考文献 References
桦木科 <i>Betulaceae</i>							
意大利桤木 <i>Alnus cordata</i>		★	★	★	★		[1,31]
欧洲鹅耳枥 <i>Carpinus betulus</i>		■	★		■		[1,21]
欧洲榛 <i>Corylus avellana</i>		★	■	■	■	■	[1,32-34]
平榛 <i>Corylus heterophylla</i>	★	★					[35-37]
壳斗科 <i>Fagaceae</i>							
板栗 <i>Castanea mollissima</i>	★	★		★	★		[1,38]
欧洲栗 <i>Castanea sativa</i>		■		★	★		[1,31,39-40]
鬃栎 <i>Castanopsis fissa</i>		★					[25]
麻栎 <i>Quercus acutissima</i>	★	★					[1,41-42]
槲栎 <i>Quercus aliena</i>	★						[42-43]
白栎 <i>Quercus fabrei</i>	★	★					[27,44]
葡萄牙栎 <i>Quercus faginea</i>		★					[45]
锥连栎 <i>Quercus franchetii</i>	★			★	★		[38,46]
赤皮青冈 <i>Quercus gilva</i>	★						[27]
青冈 <i>Quercus glauca</i>					★		[47-48]
冬青栎 <i>Quercus ilex</i>	★	■	■	■	■		[31,49]
长穗高山栎 <i>Quercus longispica</i>		★					[44]
蒙古栎 <i>Quercus mongolica</i>		★					[44]
小叶青冈 <i>Quercus myrsinifolia</i>	★						[27]
黄背栎 <i>Quercus pannosa</i>	★						[50]
沼生栎 <i>Quercus palustris</i>	★						[49]
柔毛栎 <i>Quercus pubescens</i>	★	■	★	■	■	■	[1,14,31,49]
夏栎 <i>Quercus robur</i>	■	★	■	★	■	■	[1,21,31,36,51-53]
高山栎 <i>Quercus semicarpifolia</i>		★					[25]
云山青冈 <i>Quercus sessilifolia</i>	★						[27]
灰背栎 <i>Quercus senescens</i>		★					[44]

(待续)

(续表 1)

种属 Taxonomy	中国块菌 <i>T. sinense</i>	黑孢块菌 <i>T. melanosporum</i>	意大利白块菌 <i>T. magnatum</i>	波氏块菌 <i>T. borchii</i>	夏块菌 <i>T. aestivum</i>	大孢块菌 <i>T. macrosporum</i>	参考文献 References
栓皮栎 <i>Quercus variabilis</i>		★					[25]
胡桃科 <i>Juglandaceae</i>							
美国山核桃 <i>Carya illinoensis</i>	★	★		★	★	★	[1,54-58]
化香树 <i>Platycarya strobilacea</i>	★				★		[59]
松科 <i>Pinaceae</i>							
欧洲冷杉 <i>Abies alba</i>		■	★		★		[1,31,60]
大西洋雪松 <i>Cedrus atlantica</i>		★	★	■	■	★	[1,31]
喜马拉雅雪松 <i>Cedrus deodara</i>		★	★	■	■	★	[1]
云南油杉 <i>Keteleeria evelyniana</i>	★						[49]
青海云杉 <i>Picea crassifolia</i>	★						[37]
华山松 <i>Pinus armandii</i>	★	★					[42,61-63]
思茅松 <i>Pinus kesiya</i>	★						[64]
马尾松 <i>Pinus massoniana</i>	★	★					[25,65-66]
海岸松 <i>Pinus pinaster</i>	■	★		■	★	★	[31,56]
意大利石松 <i>Pinus pinea</i>		■	★	■	★	★	[1,31]
北美乔松 <i>Pinus strobus</i>		★		■	★	★	[1,31]
云南松 <i>Pinus yunnanensis</i>	★	★					[25,65,67]
樟子松 <i>Pinus sylvestris</i>		★		■	★	★	[1,31,56]
椴树科 <i>Tiliaceae</i>							
美洲椴 <i>Tilia americana</i>				★			[31,68]
杨柳科 <i>Salicaceae</i>							
银白杨 <i>Populus alba</i>		★	■	★		■	[51,56]
黑杨 <i>Populus nigra</i>			■	■	★	■	[1,31]
圆叶杨 <i>Populus rotundifolia</i>	★						[69]
滇杨 <i>Populus yunnanensis</i>	★						[50]
白柳 <i>Salix alba</i>			■	★		■	[31,56,70]
黄花柳 <i>Salix caprea</i>		★	■	★		■	[31,56]

★：已成功进行人工合成块菌菌根的树种；■：在野外调查中能与块菌形成菌根的树种

★：Indicates tree species that have successfully synthesized truffle mycorrhiza; ■：Indicates that tree species forming truffle mycorrhiza had been observed in the field.

白块菌的菌根合成比黑块菌的菌根合成更为困难。意大利白块菌目前仅在桦木科的意大利桤木、欧洲鹅耳枥和松科的欧洲冷杉、大西洋雪松、喜马拉雅雪松、意大利五针松等物种成功人工合成菌根(表 1)。波氏块菌的菌根合成较意大利白块菌容易,目前能与桦木科的意大利桤木,壳斗科的板栗、欧洲栗、锥连栎、夏栎,胡桃科的美国山核桃和杨柳科的银白杨等进行人工培育菌根苗。对本土块菌品种的共生关系和菌根苗培育研究是十分重要的。攀枝花块菌、李氏块菌(*Tuber liyuanum* L. Fan & J.Z. Cao)和会东块菌是原产于中国的珍贵白松露,具有较高的经济价值。攀枝花块菌是国内产量最高的白块菌,目前仅成功培育了板栗、欧洲榛、美国山核桃和云南松的菌根苗^[34,58,67,71]。李氏块菌和会东块菌目前仅证实了与板栗和华山松的共生关系^[63]。

在选择块菌的宿主树种时还应注意选择适宜当地环境的树种。栗属、栎属、松属和山核桃属具有较强的适应性和广泛的分布,可以与多种块菌进行共生,常被用于制作块菌苗。其中板栗和美国山核桃作为果树还能够提高种植园的总体经济效益,具有较高的应用前景。在欧洲国家,通常使用经济价值高的黑孢块菌和意大利白块菌与橡树、松树或栗树进行共生。日本对其本土的 3 种块菌和 4 种日本本土树种进行了菌根合成,在 12 个组合中,有 9 个组合观察到了块菌菌根^[72]。在我国,块菌菌根苗培育时通常选择宿主分布广泛的中国块菌或经济价值较高的黑孢块菌、攀枝花块菌等品种,并与板栗、松树、山核桃等树种进行共生。

3 块菌菌根苗制备方法

确定块菌与宿主树种的组合后就可以进行

菌根苗制备与培育了。由于块菌菌根合成的成本较高、周期较长,因此,对培育过程进行的标准化和精细化是十分必要的。欧洲的块菌苗培育体系较为成熟,已成为重要的商业行为,并由专业实验室对所有生产的块菌苗进行检测和认证。然而我国几乎无商业公司进行大批量的块菌菌根苗的制备与销售,通常是依托(委托)科研院校进行菌根苗的培育。近年来,对块菌的研究日益增加,各研究使用的菌根苗制备方法具有一定的差异,主要表现在基质的选择和配比、接种剂的种类、菌根苗的培育方式、养分与激素的添加和菌根促生菌的使用等方面(表 2)。

3.1 栽培基质

块菌菌根苗制备时通常使用适宜植物生根和块菌生长的基质,辅以浇灌水或特定的营养液。同时,为了避免其他外生菌根真菌的竞争,常通过暴晒、高温高压消毒等手段减少基质及栽培环境中外生菌根真菌的种类和数量。块菌喜碱性石灰质土壤,质地疏松通气良好更有利于菌根的形成。目前使用较多的是泥炭、蛭石和珍珠岩的复合基质,其配比因块菌、树种和接种量等因素而不同,河沙、钙质土和块菌原土也是常用的基质。研究表明,蛭石最有利于块菌菌根的形成,珍珠岩次之;泥炭等有机质能够为块菌和幼苗的生长提供能量,但过量的氮磷有机质等营养会抑制外生菌根的形成^[76-77]。配好的基质可以用石灰或熟石灰调整 pH 为 6.5-8.0^[1,15]。近 5 年研究中使用的栽培基质见表 2。

中国块菌在多种基质种类和配比的组合下均能形成菌根且菌根率大于 50%。当使用的基质为土壤、泥炭土、蛭石、珍珠岩(5:2:2:1,体积比,下同)时,美国山核桃菌根苗在第 6 个月时菌根率为(52.1±0.9)%,中华夏块菌、黑孢块

表 2 近 5 年块菌菌根合成的方法

Table 2 Methods of mycorrhizal cultivation of truffles in recent 5 years

块菌种名 Taxonomy	宿主树种 Host tree	栽培基质 Culture substrate (V/V)	pH	接种剂 Inoculant	接种剂量* Inoculation dosage (per plant)*	添加剂或处理 Additive or treatment	菌根率** Colonization rate (%)**	参考文献 References
中国块菌 <i>T. sinense</i>	美国山核桃 <i>C. illinoensis</i>	营养贫瘠的沙子 (100%); 泥炭、蛭 石(1:1); 土壤、泥 炭、蛭石、珍珠岩 (5:2:2:1) 100% nutrient-poor sand; Organic soil: vermiculite (1:1); Soil, peat, vermiculite, perlite (5:2:2:1)	-	子囊孢子粉 Ascocarps spore powder	1.0-2.0	添加 NO 供体和不 同磷浓度处理; 添 加 NO 供体; 加入 12%石灰/碳酸钙 Subjected to exogenous NO treatment combined with P stress; No processing; Exogenous treatment of NO was applied; Add 12% lime/CaCO ₃	81.0±3.0; 88.0±2.0; 52.1±0.9	[73-74]
	华山松 <i>P. armandii</i>	蛭石、有机质 (1:1); 泥炭、蛭石、 有机质(1:1:1) Vermiculite, organic soil (1:1); Peat, vermiculite, organic soil (1:1:1)	-; 7.5	子囊孢子粉 Ascocarps spore powder	2.0	无处理; 切除根 尖, 施加烯效唑 No processing; Root-tip cutting and uniconazole treatment	62.0±10; 75.0	[61-62]
	麻栎 <i>Q. acutissima</i>	泥炭、有机质、 蛭石(1:1:1) Peat, organic soil, vermiculite (1:1:1)	7.5	子囊孢子粉 Ascocarps spore powder	2.0	-	52.1±13.5	[41]
	槲栎 <i>Q. aliena</i>	泥炭、蛭石、 有机质(1:1:1) Peat, vermiculite, organic soil (1:1:1)	7.5	子囊孢子粉 Ascocarps spore powder	2.0	-	49.0	[43]
黑孢块菌 <i>T. melanosporum</i>	美国山核桃 <i>C. illinoensis</i>	土壤、泥炭、蛭石、 珍珠岩(5:2:2:1) Soil, peat, vermiculite, perlite (5:2:2:1)	-	子实体匀浆 Ascocarps were homogenized with water	1.0	加入 12%石灰/碳 酸钙 Add 12% lime/CaCO ₃	43.5±0.9	[73]
	华山松 <i>P. armandii</i>	蛭石、有机质(1:1) Vermiculite, organic soil (1:1)	-	子囊孢子粉 Ascocarps spore powder	2.0	-	47.9±8.0	[61]
	葡萄牙栎 <i>Q. faginea</i>	钙质砂壤土、白泥 炭、石灰石粗砂 (12:6:1) Calcareous sandy loam soil, sphagnum white peat, limestone coarse sand (12:6:1)	-	子实体蔗糖 溶液 A slurry of homogenised sporocarps in a sucrose solution	2.0	施加缓释肥 Slow-release fertiliser was added	45.4	[45]

(待续)

(续表 2)

块菌种名 Taxonomy	宿主树种 Host tree	栽培基质 Culture substrate (<i>V/V</i>)	pH	接种剂 Inoculant	接种剂量* Inoculation dosage (per plant)*	添加剂或处理 Additive or treatment	菌根率** Colonization rate (%)**	参考文献 References
	冬青栎 <i>Q. ilex</i>	钙质砂壤土、白泥炭、石灰石粗砂(12:6:1); 白泥炭、黑泥炭、珍珠岩(11:7:2) Calcareous sandy loam soil, sphagnum white peat, limestone coarse sand (12:6:1); Sphagnum white peat, sphagnum black peat, perlite(11:7:2)	-	子实体粉混合滑石粉 Ascocarps spore powder with hydrated magnesium silicate powder	2.0-2.7	施加缓释肥; 草甘膦处理 Slow-release fertiliser was added; Glyphosate application	35.0-43.7; 21.2	[45,75]

*: 接种量为子实体质量(单位: g); **: 块菌在植物根系上的定殖率以文献报道中菌根率最高的处理组统计, 通常为菌根数/根尖数 $\times 100\%$; -: 参考文献中未注明

*: Inoculum amount is the weight of fruiting body (in grams); **: The colonization rate of truffles on plant roots was calculated by the treatment group with the highest mycorrhizal rate reported in the literature, which was usually mycorrhizal number/root tip number $\times 100\%$; -: It is not noted in the reference.

菌和夏块菌在同样的条件下也能形成菌根, 但菌根率均低于中国块菌^[73]。当基质为 100%河沙或泥炭土、蛭石体积比为 1:1 时, 美国山核桃菌根苗的菌根率均能达到 80%, 表明美国山核桃菌根苗的适应性强^[74]。当基质中蛭石、有机质体积比为 1:1 时, 无论是否添加泥炭均能培育华山松菌根苗^[61,78]。使用泥炭、有机质、蛭石(1:1:1.5)和蛭石、珍珠岩(1:1)培育栎属菌根苗时, 菌根率均在 50%左右^[41]。

黑孢块菌的菌根苗培育体系较为成熟, 但平均菌根率低于中国块菌。制备黑孢块菌菌根苗时, 使用基质为蛭石、有机质(1:1)的华山松菌根率达到了 47.9% \pm 8.0%^[61]。使用钙质砂壤土、白泥炭、石灰石粗砂(12:6:1)时栎树的菌根率在 40%左右^[45]。使用泥炭、珍珠岩、松树皮、石灰(9:9:2:2)基质时, 成功与多种中国本土的栎属植物建立了共生关系^[44]。

意大利白块菌的菌根合成是所有松露中最

特殊和要求最高的, 其稳定的栽培基质和方法由法国农业科学研究院和 Robin nursery 公司联合开发, 但具体的方法尚未公布^[18]。波氏块菌的栽培基质使用与黑块菌相似, 能在蛭石、泥炭(1:1), 钙质壤土、蛭石、沙(8:1:1), 泥炭、有机质、蛭石(1:1:1)等条件与宿主植物形成菌根^[46,53,79]。国产白块菌中, 攀枝花块菌能在蛭石、草炭(1:1)和草炭土、蛭石、钙质土(1:1:1)等条件下形成菌根^[58,67,71]。李氏块菌和会东块菌能在腐殖质、蛭石、沙子、珍珠岩(4:2:2:1)的条件下形成菌根^[63]。

3.2 接种剂与培育方式

宿主植物的根系生长茂盛时是接种块菌菌剂的最佳时期。块菌的菌根苗接种主要使用块菌子实体匀浆或者孢子粉进行接种, 少数研究采用纯培养的块菌菌丝体接种。制备孢子粉或子实体匀浆时应先将块菌表面进行消毒处理, 在相对无菌的条件下粉碎或匀浆后, 与无菌水

或其他材料混匀制成接种剂。在接种无菌苗时,可以使用注射器等工具取适量接种剂,施加在无菌苗根部也可以采用蘸根或浸根法进行接种,还可以将接种剂与培养基质混匀后再将无菌苗转移到混合基质中培养。

增加剂量接种能提高菌根率。在中国块菌菌根合成技术中,使用高浓度菌剂的菌根苗感染指数可提高 50.1%–125.1%^[66]。近年研究中使用的接种浓度通常为 1–5 g 子实体/株,在此范围内提高浓度可能会加快菌根的形成速度和菌根率。

纯培养的块菌菌丝体(纯菌丝)也可以作为接种剂。使用纯菌丝进行菌根合成具有遗传背景统一、接种效果稳定等优点,但该技术需要一定的专业能力且成本较高^[80]。目前,黑孢块菌、意大利白块菌、波氏块菌、拟喜马拉雅块菌、*Tuber japonicum* H. Sasaki, A. Kinosh. & Nara 和中国块菌等已经获得了纯菌丝^[29,81–84]。黑孢块菌和波氏块菌已经实现了利用纯菌丝制备菌根苗,经过人工栽培其中一部分菌根苗已经收获了松露^[80,85]。近年来报道了一些利用发酵技术培养块菌菌丝的方法,但该方法能否替代块菌子实体接种还有待证实^[86]。

除温室环境外,苗圃、野外和实验室环境也能培育出块菌菌根苗。将种植园的土壤进行熏蒸消毒后直接进行块菌接种也能成功合成美国山核桃(*Tuber lyonii* Butters)的菌根^[87]。交叉感染技术也能应用于块菌菌根苗培育中。首先建立接种池进行块菌菌根合成,成功后保留一部分菌根苗和基质并移栽新的无菌苗到接种池中,利用菌根和基质中的菌丝体侵染植物^[88]。这个方法能够节约大量的松露,减少成本,具有较强的可行性。但是随着交叉感染的进行,接种池容易受到其他菌根真菌的污染,导致宿主植物的菌根不纯,菌根率降低,菌根苗检测不合格,造成了严

重损失。

离体(*in vitro*)共生体系是基于纯菌丝的培养方式。离体体系使用了无菌的种子苗或组培苗,所有使用的基质、培养器皿和培养环境中除了块菌无其他微生物。离体共生体系比自然条件和栽培条件的成分更简单可控,不易受其他杂菌影响,具有菌根定殖率高、易于控制环境因素和生物因素等优点。目前,利用离体共生体系已经成功合成了杨树、板栗、桉树和松树等植物的外生菌根,该体系可以应用于块菌、松茸等外生菌根真菌培育^[89–94]。离体共生体系结合背景统一的优良菌根砧木品种,能促进优质高产的块菌品种进行稳定的生产,是提升块菌菌根苗质量的重要途径,同时也为研究块菌外生菌根生理生化和菌根形成的分子机制提供了技术手段。

3.3 养分和激素

水分和养分直接影响菌根的形成。适当的水势(约 0 kPa)有利于块菌菌丝的生长,洪涝会减少块菌菌根的形成^[95–96]。天冬酰胺等有机氮源和适量的磷对块菌菌根的形成有显著促进作用,基质中有机质过高会对块菌菌根形成产生抑制作用^[93]。磷胁迫和外源一氧化氮供体硝普钠处理对块菌的定殖率有显著影响;在低磷胁迫(5 $\mu\text{mol/L}$)及硝普钠的浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 时的定殖率为 81.0% \pm 3.0%;单用 100 $\mu\text{mol/L}$ 硝普钠也提高了块菌的定殖率 88.0% \pm 2.0%,并对幼苗的生物量和酶活产生积极影响^[74]。金属离子对块菌生长的影响较大,促进作用为 $\text{Ca}^{2+}>\text{Na}^{+}>\text{K}^{+}>\text{Mg}^{2+}$ ^[97]。金属离子的形态也会影响菌根共生。例如,氢氧化铁纳米颗粒能促进块菌菌根的形成^[53]。一些研究中还会使用松树皮、松针浸出液、松根浸出液等提高菌根形成效率,这些添加物中可能含有促进块菌生长的物质^[44]。

激素主要调节宿主植物的免疫反应和生长,对外生菌根的认识、形成和维持产生影响。茉莉

酸等激素通过调节防御基因的表达进而改变植物对真菌的防御强度^[98]。外生菌根的建立需要抑制植物防御,在此过程中,真菌能够释放小分子分泌蛋白等物质促进菌根间的识别,抑制植物茉莉酸途径,降低植物免疫反应,进而加强对根系的定殖能力^[98-99]。对于块菌菌根合成而言,烯效唑(植物生长调节剂)被证实能够促进块菌与宿主植物成菌根,有助于块菌菌根苗培育^[62]。适当的外源刺激能提高块菌共生效果。切除主根能提高块菌共生的效果,通常认为切除主根会改变根系的激素水平,促进侧根的发生,提高根系与真菌接触的可能性,从而提高共生效率^[62,100]。

3.4 块菌与其他生物的互作

块菌的生活史在地下完成,与多种生物和微生物有着强烈的互作关系。块菌利用独特的气味吸引动物食用,经过消化后的块菌孢子更易萌发,这对块菌的传播具有积极的意义^[2,101-102]。在块菌菌根苗制备时添加蚯蚓能够提高菌根效率,减少杂菌污染,并在接种 6 个月时显著促进块菌菌根形成^[60]。

施用菌根促生菌能提高块菌菌根合成的效率。菌根促生菌是指能促进菌根真菌在宿主植物根部的生长、定殖或间接地促进植物生长提高共生效率的微生物^[103]。荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)和皱纹假单胞菌(*Pseudomonas corrugate*)在波氏块菌的菌根中较多,具有促进孢子萌发和菌丝体生长的作用^[104]。苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)和球形节杆菌(*Arthrobacter globiformis*)表现出促生效果的特异性,分别促进不同共生组合中块菌苗形成的菌根数量^[38]。菌根促生菌的浓度会影响促生效果,假单胞菌属(*Pseudomonas*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、贪噬菌属(*Variovorax*)的菌株在不同浓度下对菌根形成和植物生长的促进效果不同,均存在最适的促生浓度^[103]。暗孢节菱孢

菌(*Arthrinium phaeospermum*)能诱导根系缩短和次根的形成,从而促进菌根的形成^[93]。块菌菌塘中含有丰富的多功能微生物,如能产生激素类物质的放线菌和能改变根系生长的芽孢杆菌,这些微生物可能在块菌的生活史中发挥重要作用^[1,105]。

构建合理的人工菌群是后续块菌人工栽培过程中的重要研究方向。根际和菌塘中的微生物对菌根食用菌的生长有直接影响,但其中大多数微生物无法直接分离培养^[106-107]。利用高通量测序技术能够发掘与块菌生长、定殖和子实体发育相关的微生物,为提高块菌菌根率和产量提供有效的技术指导^[106,108]。高通量测序结果表明,块菌菌根际微生物多样性显著低于非菌根,这表明块菌菌根对微生物具有选择作用^[109-110]。块菌显著改变了菌根和子实体周围的微生物,如根瘤菌(*Rhizobium*)、假单胞菌、镰刀菌(*Fusarium*)等,这些微生物可能对菌根定殖和子实体发育产生积极影响,并在不同发育阶段发挥作用^[111-113]。如何将测序结果中块菌促生菌有效结合到块菌菌根合成和人工栽培体系中以加快块菌栽培进程、促进块菌提质增产仍是亟待研究的课题^[114]。

植物之间的相互作用也会影响块菌菌根的形成,合适的伴生植物能促进块菌菌丝体的发育^[115]。块菌及其宿主植物选择和塑造了土壤环境中的微生物群落,最终形成环境-植物-块菌-微生物间的相互作用,影响块菌的生长和产出^[110,116-117]。

3.5 菌根苗检测与污染

生产高质量的菌根苗是优化松露人工栽培与生产的首要前提。在欧洲,商业化的育苗公司与专业性的实验室合作,由实验室对块菌菌根苗的生产和检测进行认证,从而保证技术的可行、稳定和菌根苗的高质量生产。例如,法国国家实验室和法国农业科学研究院是法国块菌菌根苗认证与检测机构,只有通过检测和认证的菌根苗

才能销售；而在国内，通常是研究院所依据推广或公司的要求进行生产，不同院所的菌根苗品质和产量差异较大。

常用的菌根苗检测方法有形态学鉴定和分子鉴定两种。形态学鉴定通常是观察菌根的颜色、形态等特征与已明确的菌根特征进行比对从而确定菌根的种类。菌根还能通过分子鉴定被鉴别，内转录间隔区序列(internally transcribed spacer, ITS)和编码 RNA 聚合酶 II 第 2 大亚基的基因(second largest subunit of RNA polymerase II, *RPB2*)被广泛用于真菌种属的鉴定。类似地，块菌的交配型基因、微管蛋白等特异性的序列都能通过聚合酶链式反应(PCR)和测序技术对菌根进行分子鉴定^[110]。

块菌的生长和交配型基因的检测成为重要的检测指标之一。扩增子测序能对块菌苗的根系真菌进行分析，同时检测是否有其他真菌污染等情况，结合实时荧光定量 PCR 技术还能监测块菌菌丝体生长等情况^[85,118]。由于块菌异宗配合的特点，对块菌苗进行交配型基因的检测成为人工栽培过程中必不可少的一项内容，维持不同交配型基因的比例可能会促进块菌子实体的产生^[119-120]。

块菌苗在培育时和移栽后都容易被其他菌根真菌污染。块菌的生长周期长、速度慢，在与其他外生菌根的竞争中不具备优势。当菌根苗移栽到野外环境中时，块菌菌根在早期占据优势，随着植物根系的生长和土壤中外生菌根真菌的竞争，导致块菌菌根数量或比例下降，严重时可能导致块菌产量下降或生产周期加长^[30,84]。菌根苗移栽到野生环境后根系和根际的块菌相对丰度降低，真菌群落由共生型向腐生型转变^[84]。块菌苗被污染的最显著特点就是形成了白色的菌根，常见的污染外生菌根有红菇属(*Russula*)、硬皮马勃属(*Scleroderma*)、乳牛肝菌属(*Suillus*)、小

球孢盘菌属(*Sphaerosporella*)等^[84,121]。不同种的块菌之间也存在竞争关系，培育的商业品种的块菌苗应预防被其他商业价值低的块菌品种污染^[7,122]。

3.6 菌根苗培育相关标准

目前，国内有 2 个对块菌菌根合成具有指导和规范作用的行业标准，分别为四川省《地理标志保护产品 攀枝花块菌生产技术规程》^[123](2020 年 12 月 1 日起实施)和贵州省《板栗印度块菌菌根苗培育技术规程》^[124](2022 年 10 月 1 日起实施)。两者在基质接种量和检测方法等方面的描述均有差别。前者使用钙质土、蛭石、泥炭、珍珠岩(2:1:1:1)为基质，pH 为 6.5–7.5；接种时剪去主根顶端，然后接种 2×10^6 – 7×10^6 个孢子/株；在出圃前进行菌根苗检测，检测要求抽检 5%并在报告中标明块菌菌根感染率、清晰的块菌菌根形态特征、显微镜结构特征图像等信息，合格的块菌菌根苗要满足菌根率大于 75%等条件^[123]。后者使用基质为草炭、珍珠岩、河沙或山砂(6:3:1)，并用石灰或氢氧化钙调 pH 值为 6.5–7.5；幼苗采用浸根法接种，接种剂为 1%–3%块菌子实体匀浆，根系浸泡于接种剂中 15–25 min；接种后每隔 1–2 个月抽检 1 次，抽检量在 5%–10%，检测方法要包含形态学观察和分子检测，合格的块菌菌根苗要求无其他菌根真菌污染且块菌菌率大于 40%^[124]。两个行业标准中，后者比前者更强调了菌根苗制备过程中的无菌和防其他菌根污染，要求对块菌苗进行定期检测和判断。尽管当前我国块菌苗培育的体量较小，但发展潜力十足，后续应加强对菌根苗评价等方面的法规或标准体系的建设，促进块菌菌根苗培育产业的健康发展。

4 总结与展望

块菌物种分类与鉴定、多样性与分布规律、

系统演化、共生组合的挖掘仍是块菌研究的重要内容。随着块菌菌根苗培育技术和测序技术的发展,块菌菌根共生和维持阶段的分子机理、菌根际微生物群落结构和多样性、微生物在块菌共生和发育过程中发挥的作用、人工干预对块菌保育和促繁的影响等内容逐渐成为块菌研究的热点和前沿问题。

大规模的基因组测序结果表明,子囊菌具有与担子菌不同的外生菌根响应基因^[12]。利用块菌菌根苗培育技术结合多组学分析能够研究菌根发育不同阶段的基因和代谢物变化,解析块菌菌根形成过程中的信号通路和维持菌根营养交换的分子机理。使用纯菌丝接种和离体培养体系能够加快块菌属与宿主植物共生的生理学和分子生物学的研究效率,但该体系在块菌中并不成熟,需要进一步研究和优化。随着对共生机理的解析和离体培养技术的成熟,未来块菌菌根苗培育将趋向于使用高效的纯菌丝与无性繁殖的苗木进行共生,从而获得稳定高产的块菌菌根苗。

微生物菌剂将成为块菌人工栽培的重要助力之一。已有研究对块菌菌根苗相关的微生物进行了高通量扩增子测序,挖掘了一部分潜在的与块菌菌丝体生长、菌根形成、子实体形成与发育、子实体品质相关的微生物,加快分离和开发利用这些块菌促生菌将是块菌微生物后续研究的重要方向之一。测序结果中已经分离纯化的块菌促生菌采用单菌接种、构建人工菌群等方式添加到块菌人工栽培过程中,从而促进块菌菌根合成与子实体发生,将为块菌栽培产业提质增效。

中国作为亚洲块菌的分布中心,有着丰富的块菌野生资源,但无序的过度采挖使得块菌资源被严重破坏。块菌菌根苗培育技术为块菌资源保护和开发、块菌的人工栽培提供了理论基础和技术实践。培育块菌菌根苗并进行人工栽培能保护块菌种质资源、提高块菌产量。在进行块

菌菌根苗制备前,应充分调查块菌与宿主植物的共生组合,选择适合当地的块菌品种和宿主树种进行开发和利用。在培育菌根苗时,应营造适宜块菌菌丝生长和侵染的土壤微环境。同时还应加快人工种植园的建立、鼓励对块菌菌塘的保育和生态修复,制定更严格的保护政策和措施,从而进行有规划的开发和利用块菌资源。

与欧洲国家的菌根培育产业相比,国内存在菌根苗生产技术和检测评价手段不规范、无权威的检测机构监管生产、移栽后管理措施不到位等问题。因此,需要强化管理规范和科技支撑,促进科研院所的块菌人工栽培技术的成果转化与推广,利用产学研结合推进块菌人工栽培产业的发展,推动高质量块菌菌根苗认证与检测体系。块菌产业有巨大的经济价值和生态价值,一旦实现块菌产出,能有持续的经济效益,提高当地农民的收入。将块菌产业与旅游采摘业、加工餐饮业进行有机结合,为林区特色经济发展增添一大潜力产业,将开辟一条生态和致富并举之路。

REFERENCES

- [1] ZAMBONELLI A, IOTTI M, MURAT C. True Truffle (*Tuber* spp.) in the World: Soil Ecology, Systematics and Biochemistry[M]. Cham: Springer International Publishing, 2016.
- [2] SELOSSE MA. Truffles[J]. *Current Biology*, 2020, 30(9): R382-R383.
- [3] FAN L, LI T, XU YY, YAN XY. Species diversity, phylogeny, endemism and geography of the truffle genus *Tuber* in China based on morphological and molecular data[J]. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 2022, 48(1): 175-202.
- [4] 范黎. 亚洲黑松露(块菌)系统分类和地理分布研究进展[J]. *菌物研究*, 2021, 19(1): 6-11.
FAN L. Current taxonomic and geographic situation on Asian black truffles[J]. *Journal of Fungal Research*, 2021, 19(1): 6-11 (in Chinese).
- [5] 李博, 孙丽华. 中国块菌研究现状[J]. *阴山学刊(自然科学版)*, 2015, 29(4): 49-52, 56.
LI B, SUN LH. The current research on truffles in China[J]. *Yinshan Academic Journal: Natural Science*

- Edition, 2015, 29(4): 49-52, 56 (in Chinese).
- [6] GWON JH, PARK H, EOM AH. Mycorrhization of *Quercus* spp. with *Tuber huidongense* and *T. himalayense* collected in Korea[J]. Mycobiology, 2022, 50(2): 104-109.
- [7] LEONARDI P, BARONI R, PULIGA F, IOTTI M, SALERNI E, PERINI C, ZAMBONELLI A. Co-occurrence of true truffle mycelia in *Tuber magnatum* fruiting sites[J]. Mycorrhiza, 2021, 31(3): 389-394.
- [8] 赵春艳, 陈旭, 董娇, 邵丽梅. 2015年~2018年我国食用菌产量和品种概况分析[J]. 中国食用菌, 2021, 40(2): 101-105.
ZHAO CY, CHEN X, DONG J, Tai LM. Analysis on Chinese edible fungi yield and varieties distribution from 2015 to 2018[J]. Edible Fungi of China, 2021, 40(2): 101-105 (in Chinese).
- [9] 李杨, 郭顺星, 陈娟. 珍稀名贵食药真菌块菌属的化学成分及药理活性研究进展[J]. 菌物学报, 2021, 40(4): 873-894.
LI Y, GUO SX, CHEN J. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Tuber* (*Pezizales*, *Ascomycota*)[J]. Mycosystema, 2021, 40(4): 873-894 (in Chinese).
- [10] 程池露, 李传华, 熊海宽, 冯娜, 张劲松. 固相萃取-超高效液相色谱-串联质谱法测定新鲜块菌子实体中 α -雄烷醇[J]. 菌物学报, 2022, 41(5): 830-836.
CHENG CL, LI CH, XIONG HK, FENG N, ZHANG JS. Determination of α -androstanol in fresh *Tuber indicum* fruiting bodies by solid phase extraction-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Mycosystema, 2022, 41(5): 830-836 (in Chinese).
- [11] QIN J, FENG B. Life cycle and phylogeography of true truffles[J]. Genes, 2022, 13(1): 145.
- [12] MIYAUCHI S, KISS E, KUO A, DRULA E, KOHLER A, SÁNCHEZ-GARCÍA M, MORIN E, ANDREPOULOS B, BARRY K W, BONITO G, BUÉE M, CARVER A, CHEN C, CICHOCKI N, CLUM A, CULLEY D, CROUS PW, FAUCHERY L, GIRLANDA M, HAYES RD, et al. Large-scale genome sequencing of mycorrhizal fungi provides insights into the early evolution of symbiotic traits[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 5125.
- [13] WANG Y, YU FQ, ZHANG CX, LIU CY, YANG M, LI SH. Edible ectomycorrhizal fungi and their cultivation in China[A]//Mushrooms, Humans and Nature in a Changing World[M]. Cham: Springer International Publishing, 2020: 31-60.
- [14] BACH C, BEACCO P, CAMMALETTI P, BABEL-CHEN Z, LEVESQUE E, TODESCO F, COTTON C, ROBIN B, MURAT C. First production of Italian white truffle (*Tuber magnatum* Pico) ascocarps in an orchard outside its natural range distribution in France[J]. Mycorrhiza, 2021, 31(3): 383-388.
- [15] 张笑萍, 叶雷, 李小林, 张小平. 块菌菌根培育技术研究进展[J]. 食用菌, 2017, 39(6): 1-6, 15.
ZHANG XP, YE L, LI XL, ZHANG XP. Research progress on cultivation technology of truffle mycorrhiza[J]. Edible Fungi, 2017, 39(6): 1-6, 15 (in Chinese).
- [16] 李熠, 范黎, 王科, 宋曼旻, 王新存, 庄文颖, 姚一建. 中国块菌资源受威胁现状及保护[J]. 食用菌学报, 2020, 27(2): 109-119.
LI Y, FAN L, WANG K, SONG MS, WANG XC, ZHUANG WY, YAO YJ. Threatened status and protection of truffle (*Tuberaceae*) resources in China[J]. Acta Edulis Fungi, 2020, 27(2): 109-119 (in Chinese).
- [17] MOLINIER V, MURAT C, FROCHOT H, WIPF D, SPLIVALLO R. Fine-scale spatial genetic structure analysis of the black truffle *Tuber aestivum* and its link to aroma variability[J]. Environmental Microbiology, 2015, 17(8): 3039-3050.
- [18] MURAT C. Forty years of inoculating seedlings with truffle fungi: past and future perspectives[J]. Mycorrhiza, 2015, 25(1): 77-81.
- [19] 刘培贵, 王云, 王向华, 陈娟, 郑焕娣, 邓晓娟, 乔鹏, 姜华, 田霄飞, 张介平, 万山平, 王冉. 中国块菌要览及其保护策略[J]. 菌物研究, 2011, 9(4): 232-243.
LIU PG, WANG Y, WANG XH, CHEN J, ZHENG HD, DENG XJ, QIAO P, JIANG H, TIAN XF, ZHANG JP, WAN SP, WANG R. Outline of Chinese truffles and their conservational strategies[J]. Journal of Fungal Research, 2011, 9(4): 232-243 (in Chinese).
- [20] 宋莹, 赵涛, 崔容, 刘娜, 张季军, 吕立涛, 邓会超, 张敏. 辽宁地区块菌资源现状、问题与建议[J]. 辽宁农业科学, 2022(1): 69-70.
SONG Y, ZHAO T, CUI R, LIU N, ZHANG JJ, LÜ LT, DENG HC, ZHANG M. Current situation, problems and suggestions of truffles resources in Liaoning region[J]. Liaoning Agricultural Sciences, 2022(1): 69-70 (in Chinese).
- [21] BÜNTGEN U, PETER M, TEGEL W, STOBBE U, ELBURG R, SPROLL L, MOLINIER V, ČEJKA T, ISAAC EL, EGLI S. Eco-archaeological excavation techniques reveal snapshots of subterranean truffle growth[J]. Fungal Biology, 2021, 125(12): 951-961.
- [22] le TACON F, RUBINI A, MURAT C, RICCIONI C,

- ROBIN C, BELFIORI B, ZELLER B, de la VARGA H, AKROUME E, DEVEAU A, MARTIN F, PAOLOCCI F. Certainties and uncertainties about the life cycle of the Périgord black truffle (*Tuber melanosporum* Vittad.)[J]. *Annals of Forest Science*, 2016, 73(1): 105-117.
- [23] 陈娟, 邓晓娟, 刘培贵. 块菌属研究概况和重要进展[J]. *微生物学通报*, 2009, 36(7): 1013-1018.
CHEN J, DENG XJ, LIU PG. Research status and significant progress on the genus *Tuber*[J]. *Microbiology China*, 2009, 36(7): 1013-1018 (in Chinese).
- [24] 陈应龙. 黑孢块菌的菌根合成及其超微结构研究[J]. *中国食用菌*, 2002, 21(5): 15-17.
CHEN YL. Mycorrhizal formation of *Tuber melanosporum*[J]. *Edible Fungi of China*, 2002, 21(5): 15-17 (in Chinese).
- [25] 弓明钦, 陈羽, 王凤珍. 黑孢块菌的苗木菌根化合成效果研究[J]. *林业科学研究*, 2003, 16(1): 52-57.
GONG MQ, CHEN Y, WANG FZ. A study of mycorrhizal synthesis effect of *Tuber melanosporum* on seedlings[J]. *Forest Research*, 2003, 16(1): 52-57 (in Chinese).
- [26] 弓明钦. 块菌首次在国内栽培成功[J]. *中国食用菌*, 2009, 28(3): 15.
GONG MQ. Truffle was successfully cultivated in China for the first time[J]. *Edible Fungi of China*, 2009, 28(3): 15 (in Chinese).
- [27] 陈波涛. 块菌的感染接种与块菌林营建技术初报[J]. *贵州林业科技*, 2003, 31(4): 10-14.
CHEN BT. Preliminary report on infection inoculation of truffle and construction technology of truffle forest[J]. *Guizhou Forestry Science and Technology*, 2003, 31(4): 10-14 (in Chinese).
- [28] 刘培贵, 乔鹏, 张介平, 赵峰岚, 赵文青. 生态环境保护与绿色野生食用菌产业发展前景: 块菌(松露)的种植及其荒山荒坡绿色发展模式[A]//第十六届中国科协年会——分5生态环境保护与绿色发展研讨会论文集[C]. 昆明, 2014: 182-188.
LIU PG, QIAO P, ZHANG JP, ZHAO FL, ZHAO WQ. Development prospect of wild edible mushrooms used for ecologic environment conservation & green industry—Truffle plantation type used in karst limestone, eco-green, barren hills, mine rehabilitation[A]//16th annual meeting of China association for science and technology—Part 5: Proceedings of the symposium on ecological environment protection and green development. Kunming: China Association for Science and Technology[C]. Kunming, 2014: 182-188 (in Chinese).
- [29] 李淑超, 乔鹏, 刘思思, 陈娟, 郭顺星. 块菌属分子系统学及菌根共生机制研究进展[J]. *菌物学报*, 2017, 36(2): 131-144.
LI SC, QIAO P, LIU SS, CHEN J, GUO SX. Research progress in the molecular systematics and symbiotic mechanism of *Tuber* (*Tuberaceae*, *Ascomycota*)[J]. *Mycosystema*, 2017, 36(2): 131-144 (in Chinese).
- [30] 刘琼波, 李向梅, 白宏芬, 周庆宏, 慕丽琴, 熊海宽, 楚雄州块菌生态种植园的建立及管理技术初探[J]. *食用菌*, 2022, 44(1): 42-45.
LIU QB, LI XM, BAI HF, ZHOU QH, MU LQ, XIONG HK. Preliminary study on establishment and management of truffle ecological plantation in Chuxiong prefecture[J]. *Edible Fungi*, 2022, 44(1): 42-45 (in Chinese).
- [31] HALL IR, BROWN GT, ZAMBONELLI A. *Taming the Truffle: The history, Lore, and Science of the Ultimate Mushroom*[M]. Portland, Or.: Timber Press, 2007.
- [32] SANTELICES R, PALFNER G. Controlled rhizogenesis and mycorrhization of hazelnut (*Corylus avellana* L.) cuttings with black truffle (*Tuber melanosporum* vitt.)[J]. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 2010, 70(2): 204-212.
- [33] SILLO F, BRUNETTI C, MARRONI F, VITA F, DOS SANTOS NASCIMENTO LB, VIZZINI A, MELLO A, BALESTRINI R. Systemic effects of *Tuber melanosporum* inoculation in two *Corylus avellana* genotypes[J]. *Tree Physiology*, 2022, 42(7): 1463-1480.
- [34] YANG M, ZOU J, LIU CY, XIAO YJ, ZHANG XP, YAN LJ, YE L, TANG P, LI XL. Chinese white truffles shape the ectomycorrhizal microbial communities of *Corylus avellana*[J]. *Annals of Microbiology*, 2019, 69(5): 553-565.
- [35] CRADDOCK J. Mycorrhizal association between *Corylus heterophylla* and *Tuber melanosporum*[J]. *Acta Horticulturae*, 1994(351): 291-298.
- [36] BULMAN SR, VISNOVSKY SB, HALL IR, GUERIN-LAGUETTE A, WANG Y. Molecular and morphological identification of truffle-producing *Tuber* species in New Zealand[J]. *Mycological Progress*, 2010, 9(2): 205-214.
- [37] 刘慧. 印度块菌与平榛、青海云杉的菌根合成研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2019.
LIU H. Mycorrhizal synthesis of *Tuber indicum* with *Corylus heterophylla* and *Picea crassifolia*[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2019 (in Chinese).
- [38] 邓晓娟, 赵清梅, 宋李杰, 刘建利. 块菌菌根促栖菌研究[J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(36): 13179-13184.
DENG XJ, ZHAO QM, SONG LJ, LIU JL. Study on mycorrhization helper bacteria of *Tuber* spp.[J]. *Journal*

- of Anhui Agricultural Sciences, 2014, 42(36): 13179-13184 (in Chinese).
- [39] CHEVALIER G. La Truffe de Bourgogne (*Tuber uncinatum* Chatin)[M]. Levallois-Perret: Editions Pétrarque, 1997.
- [40] ÁLVAREZ-LAFUENTE A, BENITO-MATÍAS LF, PEÑUELAS-RUBIRA JL, SUZ LM. Multi-cropping edible truffles and sweet chestnuts: production of high-quality *Castanea sativa* seedlings inoculated with *Tuber aestivum*, its ecotype *T. uncinatum*, *T. brumale*, and *T. macrosporum*[J]. Mycorrhiza, 2018, 28(1): 29-38.
- [41] ZHANG XP, YE L, KANG ZJ, ZOU J, ZHANG XP, LI XL. Mycorrhization of *Quercus acutissima* with Chinese black truffle significantly altered the host physiology and root-associated microbiomes[J]. PeerJ, 2019, 7: e6421.
- [42] HUANG LL, WANG YL, GUERIN-LAGUETTE A, WANG R, ZHANG P, LI YM, YU FQ. Ectomycorrhizal synthesis between two *Tuber* species and six tree species: are different host-fungus combinations having dissimilar impacts on host plant growth?[J]. Mycorrhiza, 2022, 32(3): 341-351.
- [43] LI Q, YAN LJ, YE L, ZHOU J, ZHANG B, PENG WH, ZHANG XP, LI XL. Chinese black truffle (*Tuber indicum*) alters the ectomycorrhizosphere and endoectomycosphere microbiome and metabolic profiles of the host tree *Quercus aliena*[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2202.
- [44] WANG R, GUERIN-LAGUETTE A, BUTLER R, HUANG LL, YU FQ. The European delicacy *Tuber melanosporum* forms mycorrhizae with some indigenous Chinese *Quercus* species and promotes growth of the oak seedlings[J]. Mycorrhiza, 2019, 29(6): 649-661.
- [45] GARCIA-BARREDA S, MOLINA-GRAU S, REYNA S. Fertilisation of *Quercus* seedlings inoculated with *Tuber melanosporum*: effects on growth and mycorrhization of two host species and two inoculation methods[J]. IForest-Biogeosciences and Forestry, 2017, 10(1): 267-272.
- [46] 张华, 胡弘道, 杨丽芬, 苏开美. 波氏块菌与锥连栎合成菌根苗技术初探[J]. 中国食用菌, 2013, 32(4): 30-31. ZHANG H, HU HD, YANG LF, SU KM. Preliminary study on the mycorrhizal synthesis of *Tuber borchii* vittadini on *Quercus franchetii* Skan seedlings[J]. Edible Fungi of China, 2013, 32(4): 30-31 (in Chinese).
- [47] SUWANNARACH N, KUMLA J, VADTHANARAT S, RASPÉ O, LUMYONG S. Morphological and molecular evidence support a new truffle, *Tuber lannaense*, from Thailand[J]. Mycological Progress, 2016, 15(8): 827-834.
- [48] HU HT, WANG Y, HU BY. Cultivation of *Tuber formosanum* on limed soil in Taiwan[J]. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 2005, 33(4): 363-366.
- [49] HUANG LL, GUERIN-LAGUETTE A, WANG R, YU FQ. Characterization of *Tuber indicum* (*Pezizales, Tuberales*) mycorrhizae synthesized with four host trees exotic to China[J]. Symbiosis, 2020, 82(3): 215-224.
- [50] DENG XJ, YU FQ, LIU PG. Contribution to confirmed & synthesized on mycorrhizae of *Tuber indicum* s.l. with two dominated & subalpine broadleaf trees in southwestern China[J]. American Journal of Plant Sciences, 2014, 5(21): 3269-3279.
- [51] KOVÁCS GM, JAKUCS E. Morphological and molecular comparison of white truffle ectomycorrhizae[J]. Mycorrhiza, 2006, 16(8): 567-574.
- [52] BAJAJ SR, MARATHE SJ, GREBENC T, ZAMBONELLI A, SHAMEKH S. First report of European truffle ectomycorrhiza in the semi-arid climate of Saudi Arabia[J]. 3 Biotech, 2021, 11(1): 24.
- [53] LEONARDI P, LUGLI F, IOTTI M, PULIGA F, PIANA F, GALLO M, BALDI F, ANTISARI LV, ZAMBONELLI A, CHIARANTINI L. Effects of biogenerated ferric hydroxides nanoparticles on truffle mycorrhized plants[J]. Mycorrhiza, 2020, 30(2): 211-219.
- [54] BENUCCI GMN, BONITO G, FALINI LB, BENCIVENGA M. Mycorrhization of Pecan trees (*Carya illinoensis*) with commercial truffle species: *Tuber aestivum* Vittad. and *Tuber borchii* Vittad[J]. Mycorrhiza, 2012, 22(5): 383-392.
- [55] HUANG Y, ZOU J, KANG ZJ, ZHANG XP, PENTTINEN P, ZHANG XP, LI XL. Effects of truffle inoculation on a nursery culture substrate environment and seedling of *Carya illinoensis*[J]. Fungal Biology, 2021, 125(7): 576-584.
- [56] BONITO GM, GRYGANSKYI AP, TRAPPE JM, VILGALYS R. A global meta-analysis of *Tuber* ITS rDNA sequences: species diversity, host associations and long-distance dispersal[J]. Molecular Ecology, 2010, 19(22): 4994-5008.
- [57] GRUPE AC, SULZBACHER MA, GREBENC T, HEALY R, BONITO G, SMITH ME. *Tuber brennemanii* and *Tuber floridanum*: two new *Tuber* species are among the most commonly detected ectomycorrhizal taxa within commercial pecan (*Carya illinoensis*) orchards[J]. Mycologia, 2018, 110(4): 780-790.
- [58] 柳成益, 杨梅, 肖玉军, 李小林, 唐平. 攀枝花块菌的

- 菌根苗培育方法: CN107027519B[P]. 2019-06-25.
- LIU CY, YANG M, XIAO YJ, LI XL, TANG P. Mycorrhizal seedling culture method of *Tuber panzhihuanense*: CN107027519B[P]. 2019-06-25 (in Chinese).
- [59] 苏开美, 李树红, 杨丽芬, 赵静, 赵永昌. 印度块菌、夏块菌与化香树合成菌根苗技术初探[J]. 中国食用菌, 2012, 31(3): 10-12.
- SU KM, LI SH, YANG LF, ZHAO J, ZHAO YC. Techniques for the synthesis of mycorrhizal seeding of *Platycarya strobilacea* with *Tuber indicum* and *T. aestivum*[J]. Edible Fungi of China, 2012, 31(3): 10-12 (in Chinese).
- [60] NAHBERGER TU, BENUCCI GMN, KRAIGHER H, GREBENC T. Effect of earthworms on mycorrhization, root morphology and biomass of silver fir seedlings inoculated with black summer truffle (*Tuber aestivum* Vittad.)[J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 6167.
- [61] ZHANG XP, LI XL, YE L, HUANG Y, KANG ZJ, ZHANG B, ZHANG XP. Colonization by *Tuber melanosporum* and *Tuber indicum* affects the growth of *Pinus armandii* and *phoD* alkaline phosphatase encoding bacterial community in the rhizosphere[J]. Microbiological Research, 2020, 239: 126520.
- [62] LI XL, YE L, ZHANG XP, TAN H, LI Q. Root-tip cutting and uniconazole treatment improve the colonization rate of *Tuber indicum* on *Pinus armandii* seedlings in the greenhouse[J]. Microbial Biotechnology, 2020, 13(2): 535-547.
- [63] WAN SP, YU FQ, TANG L, WANG R, WANG Y, LIU PG, WANG XH, ZHENG Y. Ectomycorrhizae of *Tuber huidongense* and *T. liyuanum* with *Castanea mollissima* and *Pinus armandii*[J]. Mycorrhiza, 2016, 26(3): 249-256.
- [64] 张春霞, 何明霞, 高峰, 刘静, 曹昉, 许欣景, 王文兵, 王云. 印度块菌和思茅松菌根合成的研究[J]. 西南农业学报, 2015, 28(1): 329-332.
- ZHANG CX, HE MX, GAO F, LIU J, CAO Y, XU XJ, WANG WB, WANG Y. Study on mycorrhizal synthesis of *Tuber indicum* with *Pinus kesiya* var. *langbianensis*[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2015, 28(1): 329-332 (in Chinese).
- [65] 潘高潮, 何云松, 李峰, 龙汉武, 邹方伦. 黑孢块菌纯菌种对树根的侵染研究[J]. 江苏农业科学, 2011, 39(3): 228-229.
- PAN GC, HE YS, LI F, LONG HW, ZOU FL. Study on the infection of *Tuber melanosporum* on tree roots[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2011, 39(3): 228-229 (in Chinese).
- [66] 胡炳福, 尹晓阳, 朱忠荣, 远香美, 杨安敏, 金天喜, 胡刚, 廖万兵, 杨萍. 印度块菌苗木菌根化接种技术研究[J]. 贵州林业科技, 2006, 34(2): 15-18, 26.
- HU BF, YIN XY, ZHU ZR, YUAN XM, YANG AM, JIN TX, HU G, LIAO WB, YANG P. Study on the inoculation technology of *Tuber* sp. for the mycorrhizal seedlings[J]. Guizhou Forestry Science and Technology, 2006, 34(2): 15-18, 26 (in Chinese).
- [67] 柳成益, 杨梅, 唐平, 李小林, 肖玉军, 郑林用, 王云. 攀枝花块菌菌根苗培育及显微结构研究[J]. 中国食用菌, 2014, 33(4): 14-16.
- LIU CY, YANG M, TANG P, LI XL, XIAO YJ, ZHENG LY, WANG Y. Research on mycorrhizal seedling cultivation and microstructure of *Tuber panzhihuanense*[J]. Edible Fungi of China, 2014, 33(4): 14-16 (in Chinese).
- [68] MENOTTA M, GIOACCHINI AM, AMICUCCI A, BUFFALINI M, SISTI D, STOCCHI V. Headspace solid-phase microextraction with gas chromatography and mass spectrometry in the investigation of volatile organic compounds in an ectomycorrhizae synthesis system[J]. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2004, 18(2): 206-210.
- [69] 张小雷, 李树红, 李世彪, 杨丽芬, 马美芳, 苏开美. 印度块菌与园叶杨合成菌根苗技术初探[J]. 中国食用菌, 2011, 30(6): 18-20.
- ZHANG XL, LI SH, LI SB, YANG LF, MA MF, SU KM. Techniques for the synthesis of mycorrhizal seeding of *Populus bonatii* with *Tuber indicum*[J]. Edible Fungi of China, 2011, 30(6): 18-20 (in Chinese).
- [70] PARÁDI I, BAAR J. Mycorrhizal fungal diversity in willow forests of different age along the river Waal, the Netherlands[J]. Forest Ecology and Management, 2006, 237(1/2/3): 366-372.
- [71] 李向梅, 刘琼波, 白宏芬, 刘增军, 杨彝华. 块菌与板栗培育菌根苗技术探讨[J]. 中国食用菌, 2017, 36(4): 32-34.
- LI XM, LIU QB, BAI HF, LIU ZJ, YANG YH. Techniques for the synthesis of mycorrhizal seeding of *Castanea mollissima* with *Tuber*[J]. Edible Fungi of China, 2017, 36(4): 32-34 (in Chinese).
- [72] KINOSHITA A, OBASE K, YAMANAKA T. Ectomycorrhizae formed by three Japanese truffle species (*Tuber japonicum*, *T. longispinosum*, and *T. himalayense*) on indigenous oak and pine species[J]. Mycorrhiza, 2018, 28(7): 679-690.
- [73] 邹捷. 不同块菌侵染美国山核桃对其植株生长和根系微生物影响[D]. 雅安: 四川农业大学硕士学位论文, 2019.
- ZOU J. Effects of different *Tuber* infected *Carya illinoensis* on plant growth and root microecology[D]. Yaan: Master's Thesis of Sichuan Agricultural University, 2019 (in Chinese).

- [74] ZHANG XP, LI XL, WU CG, YE L, KANG ZJ, ZHANG XP. Exogenous nitric oxide and phosphorus stress affect the mycorrhization, plant growth, and associated microbes of *Carya illinoensis* seedlings colonized by *Tuber indicum*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2634.
- [75] GÓMEZ-MOLINA E, SÁNCHEZ S, PARLADÉ J, CIRUJEDA A, PUIG-PEY M, MARCO P, GARCIA-BARREDA S. Glyphosate treatments for weed control affect early stages of root colonization by *Tuber melanosporum* but not secondary colonization[J]. *Mycorrhiza*, 2020, 30(6): 725-733.
- [76] 陈应龙. 块菌菌根合成及其形态研究[J]. *中国食用菌*, 2001, 20(3): 20-21.
CHEN YL. Mycorrhizal formation and morphological studies on truffles (*Tuber* spp.)[J]. *Edible Fungi of China*, 2001, 20(3): 20-21 (in Chinese).
- [77] GENRE A, LANFRANCO L, PEROTTO S, BONFANTE P. Unique and common traits in mycorrhizal symbioses[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 18(11): 649-660.
- [78] 李淑超, 刘培贵, 陈娟, 郭顺星. 华山松印度块菌菌根中的块菌交配型基因的初步研究[J]. *菌物学报*, 2017, 36(7): 879-891.
LI SC, LIU PG, CHEN J, GUO SX. A preliminary study on the mating type genes of *Tuber indicum* in inoculated seedlings of *Pinus armandii*[J]. *Mycosystema*, 2017, 36(7): 879-891 (in Chinese).
- [79] LI XL, ZHANG XP, YANG M, YAN LJ, KANG ZJ, XIAO YJ, TANG P, YE L, ZHANG B, ZOU J, LIU CY, LIU CY. *Tuber borchii* shapes the ectomycorrhizosphere microbial communities of *Corylus avellana*[J]. *Mycobiology*, 2019, 47(2): 180-190.
- [80] IOTTI M, PIATTONI F, LEONARDI P, HALL IR, ZAMBONELLI A. First evidence for truffle production from plants inoculated with mycelial pure cultures[J]. *Mycorrhiza*, 2016, 26(7): 793-798.
- [81] 樊莉娟, 张国珍, 张冰冰, 徐莺, 秦小波. 植物菌根块菌分子鉴定及菌丝培养基优化的研究[J]. *广西植物*, 2021, 41(8): 1288-1295.
FAN LJ, ZHANG GZ, ZHANG BB, XU Y, QIN XB. Molecular identification and optimization of hyphae culture medium in plant mycorrhizal tubers[J]. *Guihaia*, 2021, 41(8): 1288-1295 (in Chinese).
- [82] IOTTI M, AMICUCCI A, STOCCHI V, ZAMBONELLI A. Morphological and molecular characterization of mycelia of some *Tuber* species in pure culture[J]. *The New Phytologist*, 2002, 155(3): 499-505.
- [83] NAKANO S, OBASE K, NAKAMURA N, KINOSHITA A, KURODA K, YAMANAKA T. Mitospore formation on pure cultures of *Tuber japonicum* (*Tuberaceae*, *Pezizales*) *in vitro*[J]. *Mycorrhiza*, 2022, 32(3): 353-360.
- [84] 徐诗毅. 印度块菌分离培养、菌根苗创制及伴生微生物多样性[D]. 北京: 北京农学院硕士学位论文, 2021.
XU SY. Isolation of pure culture strains, preparation of mycorrhizal seedlings and diversity of associated microorganisms of *Tuber indicum*[D]. Beijing: Master's Thesis of Beijing University of Agriculture, 2021 (in Chinese).
- [85] LEONARDI P, MURAT C, PULIGA F, IOTTI M, ZAMBONELLI A. Ascoma genotyping and mating type analyses of mycorrhizas and soil mycelia of *Tuber borchii* in a truffle orchard established by mycelial inoculated plants[J]. *Environmental Microbiology*, 2020, 22(3): 964-975.
- [86] 国琦, 梁双敏, 葛长荣, 肖智超. 黑松露多糖提取工艺优化及体外抗氧化活性分析[J]. *现代食品科技*, 2021, 37(12): 187-196, 308.
GUO Q, LIANG SM, GE CR, XIAO ZC. Extraction optimization for the polysaccharides from *Tuber sinense* and their *in vitro* antioxidant activities[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2021, 37(12): 187-196, 308 (in Chinese).
- [87] GRUPE AC 2ND, JUSINO MA, MUJIC AB, SPAKES-RICHTER B, BONITO G, BRENNEMAN T, SMITH ME. Effects of field fumigation and inoculation with the pecan truffle (*Tuber lyonii*) on the fungal community of pecan (*Carya illinoensis*) seedlings over 5 years[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 661515.
- [88] 林强, 任君芳, 冉晓潇, 柳成益, 韩灯. 块菌菌根苗高效交叉感染技术研究[J]. *四川林业科技*, 2013, 34(4): 25-26.
LIN Q, REN JF, RAN XX, LIU CY, HAN D. A study of the cross-infection technique of mycorrhizal seedlings of truffles[J]. *Journal of Sichuan Forestry Science and Technology*, 2013, 34(4): 25-26 (in Chinese).
- [89] LOURO R, NATÁRIO B, SANTOS-SILVA C. Morphological characterization of the *in vitro* mycorrhizae formed between four *Terfezia* species (*Pezizaceae*) with *Cistus salvifolius* and *Cistus ladanifer*-towards desert truffles production in acid soils[J]. *Journal of Fungi: Basel, Switzerland*, 2021, 7(1): 35.
- [90] BASSO V, KOHLER A, MIYAUCHI S, SINGAN V, GUINET F, ŠIMURA J, NOVÁK O, BARRY KW, AMIREBRAHIMI M, BLOCK J, DAGUERRE Y, NA H, GRIGORIEV IV, MARTIN F, VENEULT-FOURREY C. An ectomycorrhizal fungus alters sensitivity to jasmonate, salicylate, gibberellin, and ethylene in host roots[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2020, 43(4): 1047-1068.
- [91] WONG-BAJRACHARYA J, SINGAN VR, MONTI R, PLETT KL, NG V, GRIGORIEV IV, MARTIN FM,

- ANDERSON IC, PLETT JM. The ectomycorrhizal fungus *Pisolithus microcarpus* encodes a microRNA involved in cross-Kingdom gene silencing during symbiosis[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2022, 119(3): e2103527119.
- [92] 曹庆芹, 秦岭, 王溢洋, 张昊琳, 葛月阳, 李虎臣, 李光栋, 邢宇, 张卿, 房克凤. 一种板栗与真菌离体共生培养的方法: CN109937884A[P]. 2021-10-01.
CAO QQ, QIN L, WANG YY, ZHANG HL, GE YY, LI HC, LI GD, XING Y, ZHANG Q, FANG KF. A method for *in vitro* symbiotic culture of *Castanea mollissima* and fungi: CN109937884A[P]. 2021-10-01 (in Chinese).
- [93] SABELLA E, NUTRICATI E, APRILE A, MICELI A, SORCE C, LORENZI R, de BELLIS L. *Arthrinium phaeospermum* isolated from *Tuber borchii* ascomata: the first evidence for a “Mycorrhization Helper Fungus”?[J]. Mycological Progress, 2015, 14(8): 59.
- [94] TANG NW, LEBRETON A, XU WJ, DAI YC, YU FQ, MARTIN FM. Transcriptome profiling reveals differential gene expression of secreted proteases and highly specific gene repertoires involved in *Lactarius-Pinus* symbioses[J]. Frontiers in Plant Science, 2021, 12: 714393.
- [95] IOTTI M, LEONARDI P, VITALI G, ZAMBONELLI A. Effect of summer soil moisture and temperature on the vertical distribution of *Tuber magnatum* mycelium in soil[J]. Biology and Fertility of Soils, 2018, 54(6): 707-716.
- [96] THOMAS PW. Ectomycorrhiza resilience and recovery to extreme flood events in *Tuber aestivum* and *Quercus robur*[J]. Mycorrhiza, 2021, 31(4): 511-517.
- [97] 汤亚杰, 孔国平, 朱伶俐, 刘瑞桑, 李冬生. 块菌活性成分及其人工栽培研究进展[J]. 中草药, 2007, 38(4): 629-632.
TANG YJ, KONG GP, ZHU LL, LIU RS, LI DS. Advances in studies on active constituents from truffle and its artificial cultivation[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2007, 38(4): 629-632 (in Chinese).
- [98] MARTIN F, KOHLER A, MURAT C, VENAULT-FOURREY C, HIBBETT DS. Unearthing the roots of ectomycorrhizal symbioses[J]. Nature Reviews Microbiology, 2016, 14(12): 760-773.
- [99] 冯邦, 杨祝良. 外生菌根共生: 共生真菌多样性及菌根形成的分子机制[J]. 中国科学: 生命科学, 2019, 49(4): 436-444.
FENG B, YANG ZL. Ectomycorrhizal symbioses: diversity of mycobionts and molecular mechanisms that entail the development of ectomycorrhizae[J]. Scientia Sinica: Vitae, 2019, 49(4): 436-444 (in Chinese).
- [100] ANDRÉS-ALPUENTE A, SÁNCHEZ S, MARTÍN M, AGUIRRE AJ, BARRIUSO JJ. Comparative analysis of different methods for evaluating quality of *Quercus ilex* seedlings inoculated with *Tuber melanosporum*[J]. Mycorrhiza, 2014, 24(1): 29-37.
- [101] ORI F, MENOTTA M, LEONARDI M, AMICUCCI A, ZAMBONELLI A, COVÈS H, SELOSSE MA, SCHNEIDER-MAUNOURY L, PACIONI G, IOTTI M. Effect of slug mycophagy on *Tuber aestivum* spores[J]. Fungal Biology, 2021, 125(10): 796-805.
- [102] ORI F, TRAPPE J, LEONARDI M, IOTTI M, PACIONI G. Crested porcupines (*Hystrix cristata*): mycophagist spore dispersers of the ectomycorrhizal truffle *Tuber aestivum*[J]. Mycorrhiza, 2018, 28(5): 561-565.
- [103] 王冉, 刘培贵, 万山平, 于富强. 印度块菌(*Tuber indicum*)菌根促生细菌的研究[J]. 微生物学通报, 2015, 42(12): 2366-2376.
WANG R, LIU PG, WAN SP, YU FQ. Study on mycorrhization helper bacteria (MHB) of *Tuber indicum*[J]. Microbiology China, 2015, 42(12): 2366-2376 (in Chinese).
- [104] SBRANA C, AGNOLUCCI M, BEDINI S, LEPERA A, TOFFANIN A, GIOVANNETTI M, NUTI MP. Diversity of culturable bacterial populations associated to *Tuber borchii* ectomycorrhizas and their activity on *T. borchii* mycelial growth[J]. FEMS Microbiology Letters, 2002, 211(2): 195-201.
- [105] 王田田, 孟小靖, 马沁沁, 雍彬, 苗玉志. 四川攀枝花地区印度块菌菌根根际土壤内可培养放线菌功能多样性[J]. 生态科学, 2019, 38(5): 127-137.
WANG TT, MENG XJ, MA QQ, YONG B, MIAO YZ. Functional diversity of culturable actinomycetes isolated from *Tuber indicum* mycorrhizal soils in Panzhihua, Sichuan[J]. Ecological Science, 2019, 38(5): 127-137 (in Chinese).
- [106] 张举龙, 陈青君, 秦岭, 王珊珊, 张国庆. 油松林地点柄乳牛肝菌菌塘细菌群落动态[J]. 应用与环境生物学报, 2015, 21(5): 974-980.
ZHANG JL, CHEN QJ, QIN L, WANG SS, ZHANG GQ. Dynamics of bacterial community of *Suillus granulatus* mushroom shiro in pine (*Pinus tabulaeformis*) forests[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2015, 21(5): 974-980 (in Chinese).
- [107] 邓晓娟, 闫兴富, 刘建利, 刘培贵. 印度块菌-云南松菌根际土壤细菌的种群组成和群落结构[J]. 生态学报, 2018, 38(19): 7066-7074.
DENG XJ, YAN XF, LIU JL, LIU PG. Study of bacterial population composition and structure of *Tuber indicum*×*Pinus yunnanensis* ectomycorrhizosphere[J]. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(19): 7066-7074 (in Chinese).

- [108] WANG DY, XU Q, GUO WJ, WU FL, CHEN J, LIU PG, TIAN W, QIAO P. Microbial communities of ascocarps and soils in a natural habitat of *Tuber indicum*[J]. Archives of Microbiology, 2022, 204(3): 189.
- [109] GIORGIO M, NICCOLÒ BGM, BENEDETTA T, LUISA M, LEONARDO BF, GREGORY B, PIETRO B, ALBERTO A, DOMIZIA D, EMIDIO A. Fungal and bacterial diversity in the *Tuber magnatum* ecosystem and microbiome[J]. Microbial Ecology, 2022: 1-14.
- [110] CHEN J, de la VARGA H, TODESCO F, BEACCO P, MARTINO E, LE TACON F, MURAT C. Frequency of the two mating types in the soil under productive and non-productive trees in five French orchards of the Périgord black truffle (*Tuber melanosporum* Vittad.)[J]. Mycorrhiza, 2021, 31(3): 361-369.
- [111] LI Q, ZHAO J, XIONG C, LI XL, CHEN ZQ, LI P, HUANG WL. *Tuber indicum* shapes the microbial communities of ectomycorrhizosphere soil and ectomycorrhizae of an indigenous tree (*Pinus armandii*) [J]. PLoS One, 2017, 12(4): e0175720.
- [112] LIU D, CHATER CCC, YU FQ, Perez-Moreno J. *Tuber pseudohimalayense* ascomata-compartments strongly select their associated bacterial microbiome from nearby pine forest soils independently of their maturation stage[J]. Pedobiologia, 2021, 87/88: 150743.
- [113] CHEN J, LI JM, TANG YJ, XING YM, QIAO P, LI Y, LIU PG, GUO SX. Chinese black truffle-associated bacterial communities of *Tuber indicum* from different geographical regions with nitrogen fixing bioactivity[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 2515.
- [114] CARRASCO J, PRESTON GM. Growing edible mushrooms: a conversation between bacteria and fungi[J]. Environmental Microbiology, 2020, 22(3): 858-872.
- [115] TASCHEN E, SAUVE M, VINCENT B, PARLADÉ J, van TUINEN D, AUMEERUDDY-THOMAS Y, ASSEMAT B, SELOSSE MA, RICHARD F. Insight into the truffle *brûlé*: tripartite interactions between the black truffle (*Tuber melanosporum*), holm oak (*Quercus ilex*) and arbuscular mycorrhizal plants[J]. Plant and Soil, 2020, 446(1): 577-594.
- [116] 王浩, 吴爱姣, 刘保兴, 刘润进, 陈应龙. 菌根真菌多样性与植物多样性的相互作用研究进展[J]. 微生物学通报, 2020, 47(11): 3918-3932.
WANG H, WU AJ, LIU BX, LIU RJ, CHEN YL. Interactions between mycorrhizal fungal diversity and plant diversity: a review[J]. Microbiology China, 2020, 47(11): 3918-3932 (in Chinese).
- [117] SPLIVALLO R, VAHDATZADEH M, MACIÁ-VICENTE JG, MOLINIER V, PETER M, EGLI S, UROZ S, PAOLOCCI F, DEVEAU A. Orchard conditions and fruiting body characteristics drive the microbiome of the black truffle *Tuber aestivum*[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 1437.
- [118] QUERALT M, PARLADÉ J, PERA J, de MIGUEL AM. Seasonal dynamics of extraradical mycelium and mycorrhizas in a black truffle (*Tuber melanosporum*) plantation[J]. Mycorrhiza, 2017, 27(6): 565-576.
- [119] MURAT C, PAYEN T, NOEL B, KUO AL, MORIN E, CHEN J, KOHLER A, KRIZSÁN K, BALESTRINI R, DA SILVA C, MONTANINI B, HAINAUT M, LEVATI E, BARRY KW, BELFIORI B, CICHOCKI N, CLUM A, DOCKTERRB, FAUCHERY L, GUY J, et al. *Pezizomyces* genomes reveal the molecular basis of ectomycorrhizal truffle lifestyle[J]. Nature Ecology & Evolution, 2018, 2(12): 1956-1965.
- [120] LI Q, FU Y, SUN Q, SOURZAT P, YANG M, LIU CY, TAN H, YE L, ZOU J, WU CG, ZHANG B, LI XL. The uneven distribution of mating type genes in natural and cultivated truffle orchards contributes to the fructification of *Tuber indicum*[J]. Mycobiology, 2018, 46(1): 64-71.
- [121] 黄兰兰, 汪延良, 于富强. 外生菌根合成过程中外源竞争性真菌及其菌根形态[J]. 菌物学报, 2020, 39(5): 955-962.
HUANG LL, WANG YL, YU FQ. Exogenous competitive mycorrhizal fungi and their mycorrhiza morphology during ectomycorrhiza synthesis of some *Lactarius* and *Tuber* species on pine and oak seedlings[J]. Mycosystema, 2020, 39(5): 955-962 (in Chinese).
- [122] PIÑUELA Y, ALDAY JG, OLIACH D, CASTAÑO C, BOLAÑO F, COLINAS C, BONET JA. White mulch and irrigation increase black truffle soil mycelium when competing with summer truffle in young truffle orchards[J]. Mycorrhiza, 2021, 31(3): 371-382.
- [123] 攀枝花林业局. 地理标志保护产品 攀枝花块菌生产技术规程: DB5104/T 36-2020[S]. 2020-10-15.
Panzhihua Forestry Bureau. Geographical indication protection products: technical specification for *Tuber panzhihuanense* production: DB5104/T 36-2020[S]. 2020-10-15 (in Chinese).
- [124] 贵州省农业农村厅. 板栗印度块菌菌根苗培育技术规程: DB52/T 1677-2022[S]. 2022-06-23.
Department of Agriculture and Rural Affairs of Guizhou Province. Technical regulation for production of *Castanea mollissima-Tuber indicum* mycorrhizal seedlings: DB52/T 1677-2022[S]. 2022-06-23 (in Chinese).