

文章编号: 1001-1498(2001)04-0356-06

松茸菌株对 6 种松树幼苗的感染及其 菌根解剖学研究*

弓明钦, 王凤珍, 陈羽, 陈应龙

(中国林业科学研究院 热带林业研究所, 广东 广州 510520)

摘要: 利用我国滇产松茸 9924 菌株及日产松茸 99606 菌株, 分别对云南松、华山松、马尾松、火炬松、湿地松及加勒比松 6 种松树幼苗实施人工菌根接种, 研究结果表明, 接种后 90 d 的云南松和湿地松分别有 75% 和 78.1% 的幼苗受感染并形成菌根; 接种后 180 d, 6 种松树幼苗全部都形成菌根, 菌根感染率分别达 90.63% ~ 100%, 感染指数达 50.00 ~ 84.68; 菌根形态主要有棒状、二叉分枝状及多叉分枝状 3 种; 随树种的不同, 各类菌根形态所占比例也不同; 不同树种根系上形成菌根的长度也有差异, 以马尾松根系上的菌根最长, 华山松的菌根最短; 此外, 各种组合之间在菌套厚度、哈蒂氏网结构上也略有差别。

关键词: 松茸; 松树; 人工接种; 菌根形态

中图分类号: S718.81 文献标识码: A

松茸 [*Tricholoma matsutake* (Ito et Imai) Sing.] 是世界上最名贵的菌根型食用菌之一。在松茸的生活史中, 其菌丝体必须与树木根系共生并形成外生菌根后, 才能进而形成松茸的子实体^[1]。因此, 查明松茸菌所共生的宿主及其范围, 就成为松茸研究中的首要问题。在国内外许多文献资料中, 人们多注意松茸与当地松类树种的共生, 如日本的松茸主要与黑松 (*Pinus thunbergii* Parl.)、偃松 [*P. pumila* (Pall.) Regel] 及日本铁杉 [*Tsuga diversifolia* (Maxim) Mast.] 等树种共生^[2]; 在朝鲜半岛松茸主要与红松 (*Pinus koraiensis* Sieb. et Zucc.) 共生^[3]; 在我国台湾松茸则与台湾松 (*P. taiwanensis* Hayate) 共生^[4]; 在东北松茸则主要与赤松 (*P. densiflora* Sieb. et Zucc.) 共生^[5]; 而在云南则主要与云南松 (*P. yunnanensis* Franch.) 共生^[6]。类似的资料还有许多, 这反映出不同地方松茸, 或称松茸不同菌株 (或生态型) 与当地某些松类树种的共生关系。然而, 人们并没有注意到各地松茸还可能与除上述树种以外的其它类似树种的共生, 或同一菌株可能还有其它多个类似的宿主, 有关这方面的研究资料均较为少见。

韩桂云等^[7]曾报道, 利用松茸同一个菌株对赤松和马尾松 (*P. massoniana* Lamb.) 幼苗进行人工接种, 证明松茸与马尾松也可形成很好的菌根。

因此, 摸清松茸菌的共生宿主种类及其范围, 不仅有利于人们对松茸共生特性的深入了解, 更有利于在松茸半人工模拟栽培中对各相关因子的协调, 有利于半人工模拟栽培的完全成功。为此, 利用相同的松茸菌株在广州室内对多个树种分别进行人工接种研究。本文仅报道两

收稿日期: 1999-10-05; 修回日期: 2001-03-27

基金项目: 国家林业局重点课题 (95-07-02) 的部分内容

作者简介: 弓明钦 (1939-), 男, 四川彭州人, 研究员。

* 澳大利亚 CSIRO 的 N. Malajczuk 博士提供国外菌种; 云南保山地区林业局、保山水寨乡林业站提供部分试验种子, 谨此致谢。

个松茸菌株对6种松树幼苗的人工接种研究结果。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

1.1.1 供试菌种 *Tricholoma matsutake* 99606 和 9924 菌株。99606 菌株原产于日本广岛, 由澳大利亚 CSIRO 的 N. Malajczuk 博士提供; 9924 菌株原产我国云南, 由作者分离自松茸的子实体。

1.1.2 供试树种 云南松、华山松(*P. armandii* Franch.) 种子产于云南, 由保山地区林业局和水寨乡林业站提供; 马尾松、湿地松(*P. elliotii* Engelm.)、加勒比松(*P. caribaea* Morelet)、火炬松(*P. taeda* L.) 种子分别产于广东或直接进口, 从广东省林业厅种苗站购得。

1.2 试验方法

1.2.1 菌种扩大培养 分别将两菌株的纯培养斜面菌种接入消毒的经改良的 PDA 液体培养基中, 在 $120 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 回旋式摇床上振荡培养 30 d, 倒入灭菌匀浆器中搅碎 20 ~ 25 s 制成悬浮菌液, 保存备用。

1.2.2 幼苗准备及接种 供试种子先用 70% 酒精浸湿, 再分别用 0.1% HgCl_2 溶液表面消毒 10 s, 用无菌水反复冲洗数次, 分别在无菌沙盘中进行催芽, 待小苗开始长出幼根时进行移栽并接种。育苗容器采用黑色塑料育苗盘, 每盘 64 个穴, 每穴容积约 36 cm^3 , 其内放入无菌育苗混合基质(蛭石 泥炭 河沙 = 1 1.5 2, 体积比)。移栽时先在穴内挖一小洞, 栽入小苗 1 株, 同时注入上述菌液, 每株 3 mL, 用无菌基质覆盖并轻轻压实。试验苗放置于室外干净苗床上, 育苗盘距地面 5 ~ 10 cm, 每天淋清水 2 次, 第 2 周施 2‰ 复合肥(N P K = 10 5 5) 1 次。

1.2.3 试验处理及调查观测 试验按两个菌株分别进行, 每接种处理苗木 8 株, 重复 4 次, 随机排列, 另设不接种为对照。每 3 个月测量苗高 1 次, 同时观测菌根感染率情况, 180 d 进行收获。菌根感染率以株为单位计算, 菌根感染指数按每株幼苗随机选取 10 个长 3 cm 的根段, 每处理各选 3 株共计 30 个根段, 按有关标准进行分级及统计。菌根解剖学观测按常规徒手切片法进行, 并在显微镜下进行观测、描绘及计量。

菌根分级标准及统计公式:

菌根分级标准:

0 级: 根系无感染;

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。

感染指数(M.I.)公式:

$$\text{菌根感染指数} = \frac{\sum (\text{菌根感染级数} \times \text{感染株数})}{\text{感染最高级} \times \text{总株数}} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 松茸菌对不同苗龄松苗的接种效果

利用99606菌株的菌悬液,分别对云南松、湿地松刚发芽的芽苗(出苗仅6 d,无侧根)和小苗(出苗20 d以上,已有2~3条侧根)进行人工接种,每株3 mL菌液,经90 d后进行观察,其结果见表1。

表1 不同苗龄松苗的接种结果

树种	苗龄/d	调查株数	死亡株数	死亡率/%	形成菌根/株	感染率/%
云南松	芽苗/6	32	12	37.5	12	60.0
	小苗/20	32	1	3.13	24	75.0
湿地松	芽苗/6	32	9	28.13	15	65.2
	小苗/20	32	0	0	25	78.1

松树不同苗龄的接种结果表明:两种松树幼苗经99606松茸菌株的菌悬液接种后90 d,可形成典型的外生菌根,菌根感染率可达60%~78.1%;两种不同苗龄的幼苗中,以未长侧根的芽苗死亡较多,死亡率达28.13%~37.5%,而已长2~3条侧根的小苗死亡率仅在3.13%以下。因此,松茸菌种对松树幼苗的接种时间应在出苗20 d以后进行,不仅不会导致幼苗死亡,菌根感染率也较高。

2.2 松茸菌株对6种松树幼苗的接种效果

利用出苗后20 d,根系已长出3~4条侧根的6种不同松树幼苗,进行松茸菌的人工接种试验,接种剂量 $3 \text{ mL} \cdot \text{株}^{-1}$,180 d后收获,观测和检查有关指标,其结果见表2。

表2 松茸对不同松树幼苗的感染结果

树种	菌种处理	苗木平均高/cm	苗高比对照增加/%	感染株数	感染率/%	感染指数(M.I.)
云南松	9924	7.54	7.56	32	100	63
	99606	8.68	23.8	32	100	63.1
	CK	7.01	—	1	3.13	3.2
马尾松	9924	16.62	17.0	31	96.88	66.39
	99606	16.21	14.1	31	96.88	62.1
	CK	14.21	—	1	3.13	3.0
华山松	9924	10.41	24.97	30	93.75	59.68
	99606	10.33	24.0	29	90.63	50.0
	CK	8.33	—	2	6.25	4.5
湿地松	9924	19.57	38.3	32	100	84.65
	99606	20.68	46.15	32	100	84.38
	CK	14.15	—	0	0	0
加勒比松	9924	19.36	33.5	31	96.88	52.42
	99606	18.31	26.3	30	93.75	55.83
	CK	14.5	—	0	0	0
火炬松	9924	19.11	25.7	32	100	71.1
	99606	19.92	31.1	29	90.63	51.56
	CK	15.20	—	3	9.38	5.2

表2结果表明,两个松茸菌株的悬浮菌剂对所供试的6种松树幼苗进行人工接种后180 d,6种松树幼苗全部受感染并形成菌根,其菌根感染率可高达90.63%~100%,菌根感染指数达50~84.65。这个结果不仅证明了松茸菌的菌悬液对发芽20 d后的松树幼苗进行人工接种的方法可行,而且接种成功率颇高,同时也说明同一松茸菌株可以对多种松树幼苗形成感染。从而再次直接证明松茸确是一种广谱共生型真菌。从结果中还可看出,经松茸菌株接种的苗木,均比同树种未接种的对照苗高,最大增幅达46.15%,因此,松茸也是一种优良的菌根菌。

2.3 松茸菌在不同宿主根系上的菌根形态

分别取不同松树幼苗根系的典型菌根各30个根段,在解剖镜下观测其菌根形态,分别统计各菌根形态所占比例,同时测定菌根长度等,结果见表3。

表3 不同宿主根系的松茸菌根形态比较

项 目	云南松		马尾松		华山松		湿地松		加勒比松		火炬松	
	9924 ^①	99606	9924	99606	9924	99606	9924	99606	9924	99606	9924	99606
菌根平均长/mm	2.83	2.8	3.0	3.4	2.0	2.1	2.5	2.4	2.8	2.7	2.45	2.5
苗比												
根例	棒状	26	28	56	56	20	38	72	54	70	60	80
形/	二叉分枝状	30	32	10	12	50	52	20	40	24	30	16
态 %	多叉分枝状	44	40	34	32	30	10	8	6	6	10	4

①为各树种接种菌株号。

表3结果表明,6种不同松树幼苗所形成的菌根形态略有不同。就菌根中短根的平均长度而言,马尾松形成的菌根较长,可达3.0~3.4 mm,其次为云南松和加勒比松等,而华山松的菌根最短,平均仅2.0~2.1 mm。从菌根形态来看,6种松树形成的菌根多为棒状、二叉分枝状以及多叉分枝状等3种形态,但各树种之间各类形态菌根所占的比例却各有不同。在马尾松、湿地松、加勒比松和火炬松根系上,单轴的棒状菌根占多数,而在云南松及华山松上,棒状形态的菌根仅占1/3;二叉分枝状菌根以华山松为最多,约占菌根的1/2,其次为云南松及加勒比松等;多叉分枝状菌根则以云南松、马尾松和华山松相对较多。就两个松茸菌株而言,其所形成菌根的形态差异不大,不同宿主的菌根形态变化主要取决于宿主树种。

2.4 不同树种上松茸菌根的解剖学比较

利用2个菌种和6个树种形成的12种不同组合的菌根,经FAA液固定、染色、脱色等常规处理后,用徒手切片法分别对菌根进行形态观察,并在显微镜下进行有关观察和计测。

菌根形态观测结果表明(表4),不同松树幼苗接种菌根菌后180 d所形成的松茸菌根,除

表4 不同宿主的松茸菌根解剖学比较

树 种	菌 种	菌根直径/ μm	菌套厚度/ μm	哈蒂氏网 细胞层数	外延菌丝直径/ μm	菌根颜色
火炬松	9924	252~308	22.4~33.6	2~3	4.23	白
	99606	294~392	20.0~28.0	2~3	3.50	白
湿地松	9924	420~448	28.0~36.4	2~3	4.23	白
	99606	336~364	20.0~28.0	2~3	3.50	白
云南松	9924	350~392	20.0~33.6	2	3.50	白
	99606	322~336	20.0~33.6	2	3.50	白
马尾松	9924	350~392	22.4~33.6	2~3	3.50	白
	99606	350~364	22.4~33.6	2~3	3.50	白

(续表4)

树种	菌种	菌根直径/ μm	菌套厚度/ μm	哈蒂氏网 细胞层数	外延菌丝直径/ μm	菌根颜色
华山松	9924	336 ~ 364	28.0 ~ 33.6	2	3.50	白
	99606	364 ~ 392	28.0 ~ 33.6	2	3.50 ~ 4.20	白
加勒比松	9924	308 ~ 364	33.6 ~ 42.0	2 ~ 3	4.20	白
	99606	308 ~ 336	22.0 ~ 36.4	2 ~ 3	3.50	白

了形态差异前面已论述外,其菌根颜色一般均为白色或近白色,老熟时才呈褐色或黑褐色;菌根的外延菌丝无色,成堆时色稍深,直径3.5~4.2 μm ,分隔,未见锁状联合。

3 结论与讨论

(1) 采用松茸菌种的液体菌剂对出苗仅20d龄以后的6种松树幼苗实施人工接种,配合以人工混合的无菌基质进行育苗的技术方法,不仅接种成功率较高,而且菌根感染率强度高,是培育松茸菌根化苗木的有效方法。过去有资料指出,松茸与松树幼苗的菌根合成,应使用1年生以上的苗木,否则无菌根形成,或因使用菌种过量而导致苗木死亡^[4]。本研究结果表明,使用20d龄以上的幼苗及接种3mL菌剂的技术,这不仅不会造成幼苗死亡,而且可形成很好的菌根;随着接种的时间增加,菌根感染率越高,180d以后,菌根感染率可达90.63%~100%,也许这同使用配套的育苗基质有关,因混合基质地疏松,既具透气透水性,又有保水性,适合菌丝体生长与侵染所需条件,同时又适合松树幼苗生长。

(2) 过去已知与松茸菌共生的树种几乎都是三针松,如云南松、赤松、台湾松等,本研究除了使用马尾松、云南松等外,选择了其它4种在自然条件下与松茸毫无关系的松树进行试验,有的是五针松,有的甚至要在气候条件较热的地方生长,如加勒比松等。试验结果表明,供试的两个菌株对6种松树幼苗全部可形成侵染并都可形成典型的菌根,从而再次直接证明松茸是一种广谱共生型真菌。松茸菌可与属于五针松的华山松形成菌根,在华山松林中极少发现松茸子实体产生,华山松在林地中是否也与松茸菌形成菌根,为何很少见到华山松林中产生子实体等,还有待进一步研究。因此,松茸菌可能拥有比人们目前知道的宿主树种更多,范围更大的共生对象。

(3) 松茸菌与松树形成的菌根形态主要是棒状、二叉分枝状及多叉分枝状3种类型,其中以棒状类型为主。但是,各种不同的宿主根系之间所形成各类型菌根的比例有所不同。

(4) 菌根的解剖学特征研究结果表明,12个不同树种与菌种的组合所形成的菌根,其结构特征除了个别小的差异,如菌套厚薄程度及菌根直径等外,一般都大同小异,差别不大,都具有典型的菌套、哈蒂氏网和延生菌丝等,与前人研究基本一致^[6]。

参考文献:

- [1] 杨新美. 中国食用菌栽培学[M]. 北京: 农业出版社, 1988. 1~584.
- [2] 姜隆后, 朱慧珍, 周壁华. 食用菌生物学及栽培技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1984. 217~225.
- [3] Wang Yun, Lan R Hall, L A Evans. Ectoycorrhizal fungi with edible fruiting bodies I. *Tricholoma matsutake* and related fungi[J]. Economic Botany, 1997, 51(3): 311~327.

- [4] 胡弘道. 台湾二叶松与松茸共生关系之研究[R]. 台大实验林研究报告, 1994, 8(3): 47 ~ 54.
- [5] 王云, 谢支饬. 我国部分造林树种外生菌根真菌初步调查研究[J]. 真菌学报, 1983, 2(1), 59 ~ 61.
- [6] 臧穆. 松茸及其近缘种的分类地理研究[J]. 真菌学报, 1990, 9(2): 113 ~ 127.
- [7] 韩桂云, 何兴元, 齐玉臣, 等. 名贵食用菌根真菌松茸的初步研究[J]. 土壤学报, 1994, 31(增刊): 182 ~ 187.

Mycorrhizal Formation and Morphological Study on Six *Pinus* Species Associated with *Tricholoma matsutake* Strains

GONG Ming-qin, WANG Feng-zhen, CHEN Yu, CHEN Ying-long

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

Abstract: Two *Tricholoma matsutake* strains, 9924 and 99606 initially collected from Yunnan, China and Japan respectively, were utilized to inoculate seedlings of 6 pine species, namely *Pinus yunnanensis*, *P. armandii*, *P. massoniana*, *P. elliotii*, *P. caribaea* and *P. taeda*. Results indicated that about 75% samplings of *P. yunnanensis* and 78.1% of *P. elliotii* were infected at 90 days after inoculation. After 180 days, all inoculated saplings of the 6 pine species formed mycorrhizal association with average infective rate of 90.63% ~ 100%, and 50.00 ~ 84.68 for Mycorrhizal Index. Morphological characteristics of mycorrhizae varied with different plant species, and they were normally occur unbranched, dichotomously branched and densely cluster-like. The total mycorrhizal length also was diversified as longest in *P. massoniana* root system while shortest in *P. armandii*. Slight differences on the mantle density and the Hartig net usually found on each plant-strain combination were illustrated.

Key words: *Tricholoma matsutake*; *Pinus*; inoculation; mycorrhizal morphology