

川东南马尾松外生菌根苗及其抗铝性研究

刘 敏, 陈 刚, 李存英, 黎 勇

(内江师范学院 化学与生命科学系, 四川 内江 641112)

摘 要: 采自西南地区分离的马尾松林常见的土著菌株松乳菇(*Lactarius deliciosus* 01.03)、彩绝豆马勃(*Pisolithus tinctorius* 715)和模式种双色蜡蘑(*Laccaria bicolor* S238N)的基质纯培养物及液体纯培养物, 分别按混合(Mix=Ld 01+Ld 03+Pt 715+Lb S238N)及单独接种的方式接种 1 月龄马尾松(*Pinus massoniana*)幼苗。菌根苗在不同 pH 土壤及铝胁迫条件下培育 3 个月 后 采样分析其生长和养分吸收特性。结果表明: 4 种接种方式均能有效形成菌根, 显著增加幼苗的生物量, 促进幼苗对 N、P、K 的吸收并显著($P<0.05$)提高抗铝性; 混合接种促进马尾松幼苗生长的效果较单独接种好, 并且 pH=6.1 时, 幼苗对 K 的吸收量最大, 铝吸收量最少; pH=4.1 时, 幼苗对 N、P 的吸收效果最好, 但对 K 的吸收和对铝的抗性最差。

关键词: 马尾松; 外生菌根真菌; 混合接种; 抗铝性

中图分类号: S 791.248; S 718.81 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)11-0205-04

外生菌根(*ectomycorrhiza*)存在于 30 余科植物的一些种、属中, 尤其以木本的乔、灌木居多, 例如松科等。外生菌根的主要特征是菌丝在宿主根表生长繁殖, 交织成致密的网套状构造, 称作菌套(mantle), 可以发挥类似根毛的作用; 另一特征是菌套内层的一些菌丝可透过根的表皮进入皮层组织, 把外皮层细胞逐一包围起来, 以增加两者间的接触和物质交换面积, 这种特殊的菌丝结构称为哈蒂氏网(Hartig net)^[1]。采用菌根化育苗可以提高造林成活率, 促进苗木的生长, 提高木材产量; 还可以提高林木吸收利用养分的能力; 而且在苗期接种可以减少菌剂的用量, 节约成本^[2]。

马尾松(*Pinus massoniana*)是我国尤其是西南地区人工林和天然林的主要树种, 具有生长快, 适应性强等特性。但在植树造林工作中, 马尾松苗木成活率低, 生长缓慢, 土传病严重^[3]。在川东南地区, 土壤还有一定程度酸化, 这导致活性铝含量增加, 严重抑制马尾松的生长。研究表明通过接种外生菌根真菌, 可以提高马尾松在贫瘠土壤中的生存能力和抗铝性, 但在川东南土壤条件下进行外生真菌根育苗未见报道。有研究表明用多种外生菌根真菌制作 EMC 复合菌剂可取得良好效果^[4], 试验采用不同方式接种外生菌根真菌并比较其不同 pH 的土壤条件下对马尾松幼苗生长的影响、养分

的吸收和抗铝性效应。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

选用内江市东兴区花萼 5 队马尾松林的土壤将其分为 3 份, 播种前半月将其中 2 份用模拟酸雨浇灌调 pH=4.1 和 pH=6.1, 未处理的土壤 pH=6.7(接近中性)。播种前用 2%的甲醛水溶液消毒, 施药后用塑料薄膜覆盖 3 d, 揭膜晾干, 1 周后备用^[5]。

1.2 供试树种

马尾松(*Pinus massoniana*)种子由内江市东兴区种苗站提供。种子用 0.5%的高锰酸钾水溶液浸种 2~5 min, 清水洗净后放入 40℃恒温水浴浸种 24 h, 沥干用清水冲洗 1~2 次, 然后放入 24℃的生化培养箱中催芽^[6], 待大部分种子露白时播种于灭菌的蛭石中, 置日温(25±2)℃, 夜温(18±2)℃的温室中培养。

1.3 供试菌株

分离西南地区马尾松林的土著菌株松乳菇(*Lactarius deliciosus* 01.03), 彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius* 715); 模式种双色蜡蘑(*Laccaria bicolor* S238N)由西南大学资源与环境学院黄建国教授提供。

1.4 菌剂的制备

1.4.1 菌种活化 供试菌种接种于 Pachlewski 培养基平板培养 2 周, 活化备用。

1.4.2 液体菌剂的制备 活化的菌种用打孔法转接到 Pachlewski 液体培养(28±2)℃静置培养 1 个月, 得菌丝体。

1.4.3 固体菌剂的制备 基料: 按玉米芯 20%, 松木屑 58%, 米糠或麦麸 20%, 糖、石膏粉各 1%, 配置基料混

第一作者简介: 刘敏(1985-), 女, 四川成都人, 内江师范学院 2004 级本科学生。
通讯作者: 黎勇。E-mail: microbiology163@163.com。
基金项目: 内江师范学院大学生科研资助项目(06NSD-111)。
收稿日期: 2007-07-02

匀,加少量自来水至按手捏成团,松之即散的湿度,分装于250 mL广口瓶,灭菌备用。打孔法取活化的菌种接种(28 ± 2) $^{\circ}\text{C}$ 下培养约30 d左右,至菌丝布满整个培养基料为止。

1.5 小区设计及接种

将3种不同pH(未处理pH6.7,处理1 pH 6.1,处理2 pH 4.1)的土壤分为3个大区,每个大区再分5个小区每区面积0.5 m²,区间用砖隔开,一号区苗床中拌入固体菌剂Ld 01,二号区苗床中拌入固体菌剂Ld 03,三号区苗床中拌入固体菌剂Lb S238N,四号区苗床中混合拌入(Mix=Ld 01+Ld 03+Pt 715+Lb S238N),其量为1:1:1:1。五号区为对照不接种。每小区同时种入已萌发的100棵1月龄马尾松苗。每隔10 d,在苗木侧根旁打一小孔,将液体培养基的菌落滤出接种到侧根旁,重复5次^[7]。试验重复3次。

1.6 测量项目及方法

1.6.1 纯培养pH值对外生菌根真菌生长的影响 采用1 mol/L的HCl和1 mol/L的NaOH调节Pachlewski培养基的pH值,使用PHS-3CT型数值pH计准确测定培养基的pH值为4.5、6.7、8几个梯度,制得平板后,取活化菌种分别接种,放入(25 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 的恒温培养箱中培养20 d,观测其菌落直径及菌丝生长势^[8]。

1.6.2 感染率及生理指标测定 在幼苗生长约4个月后取样,每个试验小区随机取40株,分别测定菌根感染率、株高、根冠比、植株的鲜重和干重。

1.6.3 植株N、P、K、Al含量及种植前后土壤中N、P的含量 植株去根后于(70 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 下烘干,玛瑙研钵粉碎过100目筛。用硫酸-过氧化氢法消煮植物样品,分别用半微量凯氏定氮法、钼锑抗比色法、火焰分光光度法、铬天青S(CAS)比色法测定消化液中氮、磷、钾、铝浓度^[9,10]。

采集种植前后土样,风干过100目筛。分别用开氏消煮半微量凯氏定氮法、酸溶-钼锑抗比色法测定土壤中的氮、磷^[9]。

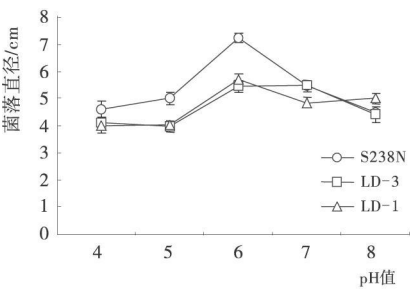
1.7 数据处理

试验数据用Microsoft Excel和SPSS 10.0统计软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同pH对外生菌根真菌生长的影响

pH值是影响菌根菌生长及菌丝体新陈代谢的重要因素之一^[11]。图所示Lb S238N最适pH是6,Ld 03最适pH分别是6和7,Ld 01最适pH是6,但pH=7时Ld 01的菌落直径为4.85 cm,pH8时Ld 01的菌落直径为5 cm,说明Ld 01适合在不同的pH情况下生长。pH对松乳菇(01,03)生长的影响不太明显,对Lb S238N生长的影响很明显。综合起来pH 6是3种外生菌根真菌生长的最适pH。



不同pH值对3种外生菌根真菌生长的影响图

2.2 接种外生菌根真菌对马尾松生长的影响

从表1可见在未处理的土壤(pH 6.7)上混合接种的感染率高于单独接种,没有接种的感染率为0,但是感染率都不高。接种后形成的菌根苗的生物量明显高于非菌根苗,其株高较对照增加了9.68%~30.86%,鲜重增重了16.01%~55.93%,干重增重了26.10%~69.99%,但根冠比较对照减少了18.15%~34.20%,这说明接种外生菌根真菌主要促进幼苗地上部分的生长。不同处理对马尾松幼苗生长的影响是不同的,其中以混合接种和接种Lb S238N影响最显著。混合接种使幼苗的株高、鲜重和干重分别比对照增加了30.86%、55.93%和51.96%,根冠比减少了34.20%;接种Lb S238N使幼苗的株高、鲜重和干重分别比对照增加了24.66%、54.72%和69.99%,根冠比减少了23.12%;接种Ld 03使幼苗的株高、鲜重和干重分别比对照增加了9.68%、39.18%和27.72%,根冠比减少了18.15%;接种Ld 01使幼苗的株高、鲜重和干重分别比对照增加了24.66%、16.01%和26.1%,根冠比减少了20.06%。

表1 pH 6.7条件下接种外生菌根真菌对马尾松生长的影响

处理	株高/cm	根冠比/%	鲜重/mg	干重/mg	感染率/%
CK	6.61c	19.94a	136.69c	33.95d	0
Lb S238N	8.24a	15.33ab	211.48a	57.71a	35.48
Ld 03	7.25b	16.32ab	190.24b	43.36c	42.31
Ld 01	8.24a	15.94ab	158.57b	42.81c	33.33
混合接种	8.65a	13.12b	213.14a	51.59b	45.83

注:表中不同字母表示差异显著性小于5%,以下同。

从表2可知在土壤pH 4.1时混合接种的感染率最高,在强酸性的环境下感染率越高马尾松幼苗越易成活,形成的菌根苗能在逆境下生存。土壤pH 6.1时马尾松的苗质好于pH 4.1和pH 6.7,这再次验证了2.1的结论;土壤pH 6.7马尾松的苗质又好于pH 4.1。土壤pH 6.1混合接种使幼苗的株高、鲜重和干重分别比土壤pH 6.7混合接种增加了2.86%、8.02%和10.25%,根冠比减少了3.22%;土壤pH 4.1混合接种使幼苗的株高、鲜重和干重分别比土壤pH 6.7混合接种减少了

18.63%、26.33%和26.63%，根冠比增加了23.34%。

表2 不同pH的土壤上混合接种效应

处理	株高/cm	根冠比/%	鲜重/mg	干重/mg	感染率/%
pH 6.7 混合接种	8.75a	13.12ab	213.14b	51.59b	45.83
pH 6.1 混合接种	9.00a	8.89b	230.23a	56.88a	50.00
pH 4.1 混合接种	7.12b	16.19b	157.03c	37.85c	58.97

2.3 接种外生菌根真菌对马尾松幼苗地上部分养分和铝含量的影响

在未处理的土壤(pH 6.7)上不同接种处理对马尾松幼苗地上部分养分和铝含量的影响见表3, 接种处理后马尾松幼苗对N的吸收高出对照46.33%~74.74%, 对P的吸收高出对照20.13%~34.23%, 对K的吸收高出对照85.96%~151.75%, 对Al的吸收比对照降低了42.25%~66.90%。对N的吸收量混合接种> Ld 0l> Lb S238N> Ld 03> CK, 对P的吸收量混合接种> Lb S238N> Ld 0l = Ld 03> CK, 对K的吸收量混合接种> Lb S238N> Ld 0l> Ld 03> CK, 对Al的吸收量CK> Ld 03> Ld 0l> Lb S238N> 混合接种。结果分析得知混合接种提高马尾松幼苗对N、P、K的吸收和对铝的抗性效果最佳。

在不同pH的土壤上混合接种对马尾松幼苗地上部分养分和铝含量的影响表4显示, 对N的吸收量pH 6.1混合接种比pH 6.7混合接种增加了4.20%, pH 4.1混合接种比pH 6.7混合接种增加了44.19%; 对P的吸收量pH 6.1混合接种比pH 6.7混合接种增加了2.5%, pH 4.1混合接种比pH 6.7混合接种增加了11.5%; 对K的吸收量pH 6.1混合接种比pH6.7混合接种增加了9.41%, pH 4.1混合接种比pH 6.7混合接种减少了34.84%, 对Al的吸收量pH 6.1混合接种比pH 6.7混合接种减少了4.30%, pH 4.1混合接种比pH 6.7混合接种增加了83.98%。结果分析得知pH 4.1混合接种促进马尾松幼苗对N、P的吸收效果最好, pH 6.7混合接种和pH 4.1混合接种促进马尾松幼苗对N、P的吸收差异不显著; pH 6.1混合接种促进马尾松幼苗对K的吸收量最大, 抗铝性也是最佳的; pH 6.7混合接种促进马尾松幼苗对K的吸收量和对铝的抗性都高于pH 4.1混合接种。

表3 pH 6.7条件下接种外生菌根真菌对马尾松幼苗地上部分养分和铝含量的影响 mg·g⁻¹

处理	N	P	K	Al
CK	13.34d	1.49d	1.14d	1.42a
Lb S238N	19.90c	1.97b	2.62ab	0.58c
Ld 03	19.52c	1.79c	2.12c	0.82b
Ld 0l	21.08 b	1.79c	2.33bc	0.79b
混合接种	23.31a	2.00a	2.87a	0.47c

2.4 种植马尾松前后土壤中N、P变化

菌根菌具有降解土壤中复杂的矿物质和有机质并把它转化为可被林木吸收、利用的有效养分的功能^[2]。

由表5分析可知种植马尾松后土壤中的N、P明显低于种植前, 可能是植物从土壤中吸收了N和P; 种植后土壤中的N、P含量与植物的N、P含量呈负相关。其中N的变化较P的变化大, 接种前的N、P与对照相比差异不明显, pH 4.1混合接种后土壤中的N、P含量较对照和接种前差异明显(P<0.05)。

表4 不同pH的土壤上混合接种对马尾松幼苗地上部分养分和铝含量的影响 mg·g⁻¹

处理	N	P	K	Al
pH 6.7 混合接种	23.31c	2.00b	2.87b	0.47b
pH 6.1 混合接种	24.29b	2.05b	3.14a	0.45b
pH 4.1 混合接种	33.61a	2.23a	1.87c	0.86a

表5 种植马尾松前后土壤中N、P变化 mg·g⁻¹

处理	种植前土壤中N、P变化		种植后土壤中N、P变化	
	N	P	N	P
CK(pH 6.7)	0.83a	0.222a	0.75ab	0.213a
Lb S238N(pH 6.7)	0.83a	0.222a	0.65bc	0.210ab
Ld 03(pH 6.7)	0.83a	0.222a	0.62bcd	0.193bc
Ld 0l(pH 6.7)	0.83a	0.222a	0.66bc	0.178cd
pH 6.7混合接种	0.83a	0.222a	0.32cd	0.170de
pH 6.1混合接种	0.83a	0.222a	0.28cd	0.160de
pH 4.1混合接种	0.83a	0.222a	0.21d	0.157de

3 讨论

接种外生菌根菌可以促进马尾松幼苗的生长, 提高对土壤中N、P、K的吸收。试验中接种外生菌根菌促进了马尾松幼苗株高增高、根冠比减小、鲜重增加、干重增加, 对土壤中N、P、K的吸收和对铝的抗性。种植后土壤中的N、P含量与植物的N、P含量呈负相关。已有研究表明混合接种外生菌根真菌有利于发挥各个菌株的长处, 促进苗木生长的效果较单独接种更好^[3]。试验用4种外生菌根真菌制作EMC复合菌剂进行混合接种, 从表1和表3分析得知混合接种促进马尾松幼苗生长的效果较单独接种好。

接种外生菌根真菌, 可以提高马尾松在贫瘠土壤中的生存能力和抗铝性, 是因为菌根分泌的有机酸可通过降低铝的化学活性来提高寄主植物的抗铝性, 还可以促进土壤中难溶养分的溶解促进植物对土壤养分的吸收^[14]。试验中pH 4.1混合接种是马尾松幼苗对N、P的吸收量高于pH 6.7混合接种和pH 6.1混合接种, 可能是因为酸度过大, 活性铝的含量增大, 在铝胁迫下菌根真菌分泌的有机酸一方面可以和铝络合形成稳定的结构从而降低了铝对植物的毒害, 另一方面还可以促进土壤中难溶养分的溶解促进植物对土壤养分的吸收。

参考文献

[1] 周德庆. 微生物学教程[M]. 北京: 北京高等教育出版社, 2002.
[2] 于富强. 外生菌根研究及应用的回顾与展望[J]. 生态学报, 2002, 22(12): 2217-2226.
[3] 马琼, 黄建国, 蒋剑波. 接种外生菌根真菌对马尾松幼苗的影响[J]. 福建林业科技, 2005, 32(2): 84-88.

- [4] 栾庆书, 王淑清, 吕晓红, 等. 高效外生菌根菌复合菌剂的研究[J]. 辽宁林业科技, 2003(6): 4-6.
- [5] 辜夕蓉, 梁国仕, 杨水平, 等. 接种双色蜡蘑对马尾松幼苗生长、养分和抗铝性的影响[J]. 林业科学, 2005, 41(4): 199-203.
- [6] 杨惠强, 洪蓉, 邹高顺, 等. 改进马尾松育苗方法的试验[J]. 福建林业科技, 1995, 22(增刊): 69-73.
- [7] 宋瑞清, 吴克. 红皮云杉外生菌根菌对苗木生长的影响[J]. 微生物学报, 2005, 45(6): 910-914.
- [8] 何绍江, 李传涵, 王长荣, 等. 2株外生菌根菌的生物学特性和接种效果的研究[J]. 华中农业大学学报, 1997, 16(1): 52-55.
- [9] 中国土壤学会. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.

版社, 2000.

- [10] 刘建华. 分光光度法测定硅铝矿渣中铝的含量[J]. 武汉化工学院学报, 2006, 28(2): 19-20.
- [11] 谢一青, 李志真, 杨宗武. pH值、盐浓度及铅离子对菌根菌生长的影响[J]. 江西农业大学学报, 2002, 24(2): 204-207.
- [12] 林鹤鸣, 周玉芝, 姜凤岐, 等. 外生菌根真菌促进油松人工幼林生长的应用研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2001, 32(4): 274-277.
- [13] 阎秀峰, 王琴. 两种外生菌根真菌在辽东栋幼苗上的混合接种效应[J]. 植物生态学报, 2004, 28(1): 17-23.
- [14] 辜夕蓉, 梁国仕, 黄建国. 外生菌根提高植物抗铝机制研究进展[J]. 中国农学通报, 2005, 21(9): 218-221.

Research on EMC Seedlings of *Pinus massoniana* and Al Resistance in Southeast of Sichuan

LIU Min, CHEN Gang, LI Cunying, LI Yong

(Department of Chemistry and Life Science, Neijiang Teachers' College, Neijiang, Sichuan 641112, China)

Abstract: The matrix pure cultures and liquid pure culture of three common indigenous strains isolated from *pinus massoniana* of southwestern were *Lactarius deliciosus* (01, 03), *Pisolithus tinctorius* 715 and the *Laccaria bicolor* S238N. With them, one-month seedlings of *Pinus massoniana* were inoculated by means of Co-inoculation (Mix=Ld 01+Ld 03+Pt 715+Lb S238N) and single inoculation respectively. The seedlings were then cultured under different pH conditions (pH4.1, pH6.1, pH6.7) and aluminum stress. Growth and the specific nutrient absorption of the seedlings were analyzed after three months. The results showed that Mycorrhizae were formed effectively in all the tests, and the absorption of N, P, K were enhanced too, leading to a significant biomass increase and aluminum resistance for the seedlings ($P<0.05$). Co-inoculation was more effective on accelerating the growth of the seedlings compared with single inoculation. When pH6.1 the seedling showed best absorption of K and least of Al, while there were best absorption of N, P, least of K, and worst aluminum resistance when pH4.1.

Key words: *Pinus massoniana*; Ectomycorrhizae; Co-inoculation; Aluminum resistance

白灵菇菌袋接受低温刺激、进入出菇阶段后,应加强显蕾阶段的管理,否则会因为管理不当造成白灵菇菌袋上下乱显蕾,浪费营养,影响菇品商品性及产量。根据大量培养白灵菇的实践,特提出以下建议,仅供菇农参考:

1. 培养料装袋时,应尽量将料袋装紧,不要留有空隙;菌袋菌丝培养阶段,应保持暗光,温度恒定;菌丝发育成熟的菌袋尽量少搬动,以免引起菌丝损伤。
2. 菌袋解绳松口后,菇棚湿度不能太低,以保持 80%~85% 为宜,如果湿度太低,则会引起菌头偏干,造成菇蕾多在菇袋中间湿度适宜的部位发生。
3. 菇棚光线应保持较暗,以利菌丝快速扭结,尽快显蕾。在这期间,如果光线较强,会导致菌头部位菌丝老化,难以现蕾;如果在菌袋中间部位,光线比较合适,菇蕾则会大量发生。
4. 现蕾阶段,菇棚气温应尽量保证 8~15℃ 的条件,如果菇棚气温高于 20℃,此时,菌头的出菇能力将明显减弱,而在料袋中间,因温度相对偏低,则会出现大量现蕾。
5. 菇棚通风条件应良好,否则会造成菌头部位现蕾过多,难于疏蕾,浪费营养。

白灵菇菌袋乱显蕾的防治

