

# 赤松菌根化育苗技术的研究

王殿东, 潘丽梅, 姜贵全

(吉林省北华大学林学院 吉林市 132013)

**摘要:**以赤松外生菌根菌种为试材,对菌根化育苗生产技术进行了研究。结果表明:在常规模培养基(PDA 中)中以加入 20%的麦麸汁培养基效果最好;松茸菌的最佳培养温度是 25℃,最适 pH 值是 5.5;经松茸液体菌剂处理的赤松种子的出苗率比对照提高了 32%;赤松菌根化育苗技术的实施使赤松接种苗比对照在株高、地径、干重等方面都有极其显著的提高,3 项指标分别提高 44.85%、31.3%和 33.3%。

**关键词:**赤松;外生菌根菌;育苗;松口蘑

**中图分类号:**S 791.245.05 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2007)07-0198-03

赤松(*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.)松科松属是著名食用菌松口蘑(松茸)的共生树种,也因此身价倍增,其材质坚硬,结构较细,防腐力强;树脂可提取多种物质;种子可榨油和食用;又是荒山荒地造林的先锋树种<sup>[1-4]</sup>。吉林省的松茸生长地域比较集中,主要分布在东部长白山区延边朝鲜族自治州的龙井、和龙、安图、图们、汪清、珲春 6 个县(市)的 10 多个乡镇,是延边州重要的出口创汇产品,大部分出口到日本、韩国,年创外汇 1 500 万美元左右。但是,近几年来作为吉林省长白山特产的松茸优势正在逐渐丧失,前景堪忧。

利用菌根化苗木造林可以提高造林成活率,促进林木生长,提高木材产量,增加产值;使土壤变得肥沃,疏松,富有弹性和团粒结构;提高林木吸收利用养分的能力,可减少化肥、农药,生长激素等化学制剂的使用,避免它们造成的环境污染,同时也可节省施肥的费用;增强林木抗性;提早幼林郁闭<sup>[5-10]</sup>;此外,赤松菌根化也是目前主要的松茸半人工栽培的方法。在常规造林困难,屡遭失败的地区,菌根的应用可加速植被恢复,防止地力衰退和环境恶化,促进生态平衡。

## 1 材料方法

### 1.1 赤松外生菌根菌种的采集和优良菌株的筛选

在吉林省长白山林区共采集到赤松外生菌根菌 4 属 6 种,即口蘑属 *Tricholoma* 的松口蘑(*Tricholoma*

*matsutake*)、乳牛肝菌属 *suillus* 的点柄乳牛肝菌(*s. granulatus*)和乳牛肝菌(*S. bovinus*)、蜡蘑属 *Laccaria* 的红蜡蘑(*L. laccata*)和紫蜡蘑(*L. amethystea*)以及乳菇属 *Lactarius* 的红汁乳菇(*L. hatsudake*)。采用 PDA 培养基进行分离。经感染试验确定感染率最高的,是可以促进赤松实生苗的菌根形成的菌种。

### 1.2 优良外生菌根培养、繁殖技术

采用以下 5 种培养基对松茸菌丝进行培养:(1)马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA);(2)在 PDA 培养基中添加 0.5%酵母浸膏;(3)在 PDA 培养基中添加 20%的松口蘑土壤煮沸滤液;(4)在 PDA 培养基中添加 20%新鲜麦麸煮沸滤液;(5)在 PDA 培养基中添加 20%赤松根浸出液。从中筛选出适合松茸生长的培养基,同时进行 pH 为 4、5、5.5、6、7 五个梯度的试验,温度为 10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃六个梯度试验。

### 1.3 赤松菌根化育苗生产技术

**1.3.1 供试种子及种子处理** 赤松种子由延吉福满林场提供的优良种子。经选优去劣,层积 60 d 后,一部分种子先用 70%酒精浸湿,再用 0.1%HgCl<sub>2</sub> 溶液表面消毒 30 s,然后用无菌水冲洗数次,播种于无菌沙盘,萌发幼苗用于菌根化育苗试验。另一部分种子用于出苗试验:用液体菌剂浸种 20 min,再播种于控温(25℃~30℃)和控湿(60%~80%)的砂床,7 d 后测出苗率。

**1.3.2 接种方法筛选试验** 以截根菌根化育苗、不截根菌根化育苗及播种育苗(CK)3 个处理 3 次重复进行对比,育苗盘基质为沙子与花土各占 50%,用 2%硫酸亚铁进行处理。截根接种方法<sup>[11,12]</sup>:将未长出初生叶和未发生侧根的幼苗从根尖切去根长的 1/4~1/2 后,用液体菌剂浸种 20 min,然后移植于育苗盘。60 d 后测苗高、地

第一作者简介:王殿东(1979-),男,吉林省人,在读硕士,研究方向为森林培育,E-mail:wddwill@yahoo.com.cn.

基金项目:吉林市科技局验收资助项目(吉市农科学第 2002-27 号)。

收稿日期:2007-02-25

径、干重。

1.3.3 不同苗龄(出苗 6 d、20 d)截根育苗试验 苗木经截根处理后,在液体菌剂中浸根约 20 min,后将其移植于苗床穴内。60 d 后随机取样 30 株分别测主根长、侧根长、侧根数、菌根感染率及菌根化率。

菌根感染指数测定:以株为单位计算,菌根感染指数按每株幼苗随机选取 20 个长 3 cm 的根段,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<sup>[13]</sup>。

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 菌种筛选

松口蘑与幼苗不仅形成菌根,而且感染率可达到 80%,乳牛肝菌和点柄乳牛肝菌虽然也能与赤松幼苗形成菌根,但感染率较低,分别为 23%和 10%,而红蜡蘑、紫蜡蘑以及红汁乳菇不能与赤松形成菌根。由此可见,松茸是一种适合应用于赤松菌根化苗木生产的外生菌根菌。

2.2 培养基筛选、不同 pH 值与温度试验

表 1 赤松种子感染松茸菌出苗率试验

| 处理 | 出苗株数 |     |     |     | 出苗率/% |      |      |      | 平均出苗率/% |
|----|------|-----|-----|-----|-------|------|------|------|---------|
|    | I    | II  | III | IV  | I     | II   | III  | IV   |         |
| 浸种 | 240  | 240 | 242 | 241 | 96.0  | 96.0 | 96.8 | 96.4 | 96.3    |
| CK | 160  | 158 | 170 | 149 | 64.0  | 63.2 | 68.0 | 59.6 | 63.7    |

松茸菌丝在 5 种培养基中的生长结果表明,PDA 中加入 20%的麦麸汁生长最好。松茸菌丝在 pH4~7 的环境中均能生长,但 pH 值为 4 和 7 时生长较为缓慢,pH 为 5.5 时生长最好,松茸菌丝在 10℃~35℃范围内

表 5 接种苗木株高、地茎粗和干重的方差分析

| 变异来源 | 自由度 | 平方和    | 株高<br>方差 | F 值        | 平方和  | 地茎粗<br>方差 | F 值      | 平方和  | 干重<br>方差 | F 值      | F <sub>0.05</sub> | F <sub>0.01</sub> |
|------|-----|--------|----------|------------|------|-----------|----------|------|----------|----------|-------------------|-------------------|
| 组间   | 1   | 104.02 | 104.02   | 1 179.08 * | 3.27 | 3.27      | 111.02 * | 12.3 | 12.32    | 794.86 * | 4.013             | 7.093             |
| 组内   | 58  | 5.12   | 0.09     |            | 1.71 | 0.23      |          | 0.9  | 0.016    |          |                   |                   |
| 总和   | 59  | 109.14 |          |            | 4.97 |           |          | 13.2 |          |          |                   |                   |

2.3.4 截根育苗技术对赤松幼苗株高、地径、干重的影响 采用截根化育苗技术,对幼苗生长量有明显的促进作用,苗高生长量比对照提高 44.8%,地径比对照增加 31.3%;干重的增幅也达到了 33.3%(见表 5),经方差分析(表 6)进一步证实赤松菌对赤松幼苗株高、地径、干重

均可以生长,但适宜松茸菌的最适培养温度为 25℃。

2.3 菌根化育苗生产技术

2.3.1 出苗率 从表 1 看出,经松茸液体菌剂处理的种子出苗率比对照提高了 32.0%,这说明由于松茸菌是优势菌,阻止了土壤中病原微生物的侵入,可能是菌根真菌产生抗生物质,抑制病菌生长发育;或由于菌根真菌能寄生在致病菌上形成重寄生,将致病菌溶解或杀死。

2.3.2 不同育苗方式筛选 从表 2 可见,凡经截根处理培育的苗木主根较短,侧根丰富且较长,与未截根育苗和播种育苗培育的苗木有显著差异,说明通过幼苗截根可促进侧根发生和生长,促进根系的发育。

表 2 不同育苗方式对苗木根系发育及菌根化的影响

| 处 理      | 根系发育   |         |        | 菌根化率(%) |
|----------|--------|---------|--------|---------|
|          | 主根长/cm | 侧根总长/cm | 侧根条数/条 |         |
| 截根菌根化育苗  | 4.0    | 80      | 10     | 100     |
| 不截根菌根化育苗 | 6.5    | 35      | 5      | 80      |
| CK       | 7.0    | 20      | 4      | 0       |

2.3.3 不同苗龄菌根感染率试验 赤松不同苗龄的接种结果表明(表 3、4),松茸菌株的菌悬液接种后 60 d 可形成典型的外生菌根,菌根感染率可达 40%~73%;两种不同苗龄接种的幼苗中,6 d 苗龄接种的苗木死亡较多,死亡率达 33%,而 20 d 苗龄接种的苗木死亡率仅在 3.3%。因此,松茸菌丝对赤松幼苗的接种时间应在出苗 20 d 以后进行,不但苗木成活率较高,而且菌根感染率和感染指数也较高。

表 3 不同苗龄赤松苗的接种结果

| 苗龄/d | 调查株数 | 死亡株数 | 死亡率/% | 形成菌根/株 | 感染率/% |
|------|------|------|-------|--------|-------|
| 6    | 30   | 10   | 33    | 12     | 40    |
| 20   | 30   | 1    | 3.3   | 22     | 73    |

表 4 赤松苗木接种菌根真菌效果

| 处理    | 平均苗高 |       | 平均地茎粗 |       | 平均干重 |       |
|-------|------|-------|-------|-------|------|-------|
|       | /cm  | 增加率/% | /mm   | 增加率/% | /g   | 增加率/% |
| 菌根化苗木 | 8.5  | 144.8 | 1.97  | 131.3 | 3.6  | 133.3 |
| CK    | 5.87 | 100   | 1.5   | 100   | 2.7  | 100   |

注:株高、地径等均为 30 株苗木测量的平均值。

表 6 接种苗木株高、地茎粗和干重的方差分析

| 变异来源 | 自由度 | 平方和    | 株高<br>方差 | F 值        | 平方和  | 地茎粗<br>方差 | F 值      | 平方和  | 干重<br>方差 | F 值      | F <sub>0.05</sub> | F <sub>0.01</sub> |
|------|-----|--------|----------|------------|------|-----------|----------|------|----------|----------|-------------------|-------------------|
| 组间   | 1   | 104.02 | 104.02   | 1 179.08 * | 3.27 | 3.27      | 111.02 * | 12.3 | 12.32    | 794.86 * | 4.013             | 7.093             |
| 组内   | 58  | 5.12   | 0.09     |            | 1.71 | 0.23      |          | 0.9  | 0.016    |          |                   |                   |
| 总和   | 59  | 109.14 |          |            | 4.97 |           |          | 13.2 |          |          |                   |                   |

的影响显著。这种引起接种苗与非菌根化苗木生物量相差的原因,主要是非接种对照苗木从播种至起苗期间,不能形成菌根,主、侧根细弱、量少,难以从土壤中吸收足够的水分和养分供苗木生长。从而证明松茸菌对赤松幼苗生长有明显的促生效果。

### 3 结论

#### 3.1 赤松外生菌根菌优良菌株的筛选

通过不同菌根真菌接种试验证实: 接种松茸菌的幼苗的菌根感染率(80%)明显高于其它供试菌种(23%, 10%, 0)。由此可认定松茸是赤松的一个优良的外生菌根真菌。

#### 3.2 优良外生菌根培养、繁殖技术

由于松茸菌对营养要求的特殊性, 试验选用了 5 种培养基配方, 从菌丝生长速度及长势来看, 在常规培养基(PDA 中)中加入 20% 的麦麸汁培养基效果最好, 这说明赤松菌根真菌(松茸)对无机物质要求不是很高, 而对糖、淀粉等碳源的要求较高。同时, 麦麸富含维生素, 对松口蘑菌丝生长非常有利。在松茸菌培养繁殖过程中除考虑营养成分外, 还要考虑培养基的酸碱度和培养温度。通过不同 pH 值、不同培养温度试验, 表明松茸菌的最佳培养温度是 25℃, 最适 pH 值是 5.5, 即酸性环境。

#### 3.3 赤松菌根化育苗生产技术

3.3.1 出苗试验 苗圃中最常见的病害是立枯病, 土壤中存在大量的致病微生物, 如丝核菌、腐霉菌、镰刀菌、胶链孢菌等, 由于赤松种子经松茸菌浸种, 而使松茸菌成为优势菌, 阻止了土壤中病原微生物的侵入, 试验结果显示, 经松茸液体菌剂处理的赤松种子的出苗率比对照提高 32%。

3.3.2 截根育苗技术对赤松苗生长的影响 对经种子发芽得到的实生幼苗进行截根, 使根内有机物溢出, 同时在截面上接种足够量的优良菌根真菌纯培养菌丝体, 菌根真菌将能缩短萌发和生长时间, 并能在无任何其它微生物竞争的情况下, 从截面上获得生长和侵入所必需的养分, 成为根部定植的唯一绝对优势微生物种群, 而

截面的伤口又为它们提供了无障碍的侵入途径, 确保优良菌根的形成。

试验结果证明了该技术的实施使赤松接种苗比对照在株高、地径、生物量等方面都有极其显著的提高, 3 项指标分别提高 44.85%、31.3% 和 33.3%。

#### 参考文献

- [1] 花晓梅. 林木菌根研究[M]. 北京: 中国林业技术出版社, 1995.
- [2] 孟繁荣. 外生菌根在高寒地区造林中的效果[J]. 林业科技, 1991, 16(2): 23-29.
- [3] 李传涵, 王长荣. 湿地松菌根的形态、类型及其接种效果研究[J]. 热带林业科技, 1987(4): 8-12.
- [4] 李玉, 栾庆书, 王淑清. 日本落叶松菌根苗培育及造林成效的研究. 辽宁林业科技, 2000(3): 3-5 12.
- [5] Mark D H. Ectomycorrhizae as Biological Deterrents to pathogenic root infections[J]. Mycorrhizae, 1971, 81-84.
- [6] 郭秀珍, 毕国昌. 林木菌根及应用技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1989: 7-11.
- [7] 花晓梅. 林木菌根生物技术的研究和应用[M]. 北京: 中国林业出版社, 1994.
- [8] Barea J M. Vesicular - arbuscular mycorrhizae as Modifiers of soil fertility[J]. Advances in Soil Science, 1991, 15: 2-3.
- [9] Evans J. Plantation Forestry in the Tropics[M]. Clarendon Press, Oxford 1982.
- [10] Moor T, Reeves F B. The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semiarid regions of west USA. A bioassay to determine the effect of land disturbance on endomycorrhizal populations. American Journal of botany, 1979 66: 14-180.
- [11] 花晓梅. 林木菌根化栽培技术[M]. 中国科学技术出版社, 1993.
- [12] 祝宁, 王义弘, 陈文斌. 植物种群生态学导论[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 1987.
- [13] 花晓梅. 外生菌根的分类和鉴定技术[M]. 中国科学技术出版社, 1994.

## The Technical Research of Cultivate *Pinus densiflora*'s Mycorrhizal Seedling

WANG Dian-dong, PAN Li-mei, JIANG Gui-quan  
(Forestry College of Beihua University, Jilin 132013)

**Abstract:** Took *Pinus densiflora* to study the technique of mycorrhizal seedling cultivation. The results were as follows: Appending 20% wheat bran in PDA culture medium was the best for mycelium growth; the experiment of different pH and temperature showed that the optimum culture temperature was 25℃ and the optimum pH was 5.5; seeding emergence rate increased by 32% that treated with liquid mycelium than comparison; by using this technique the shoot height increased by 44.85%, the stem diameter by 31.3%, and the dry weight by 33.3%.

**Key words:** *Pinus densiflora*; Ectomycorrhizal fungi; Seedling cultivation; *Tricholoma matsutake*