

# 早期真菌与本土和外来松的菌根合成

黄兰兰<sup>1,2</sup>, 王冉<sup>1</sup>, 时晓菲<sup>1</sup>, 于富强<sup>1\*</sup>

1 中国科学院昆明植物研究所 中国西南野生生物种质资源库 云南省真菌多样性与绿色发展重点实验室, 云南 昆明 650201

2 云南农业大学资源与环境学院, 云南 昆明 650204

**摘要:** 为探讨早期真菌与本土和外来松树的共生特性, 选用 3 种早期外生菌根真菌(环褐乳牛肝菌 *Suillus luteus*、虎皮乳牛肝菌 *S. phylopictus* 和酒红蜡蘑 *Laccaria vinaceoavellanea*)接种 2 种本地松(云南松 *Pinus yunnanensis*、华山松 *P. armandii*)和 2 种外来松(*P. greggii*、*P. maximartinensis*), 并对接种后的侵染率、菌根特征和松苗株高等进行测量和分析, 结果显示: 6 个月后, 2 种乳牛肝菌与 4 种松均能形成菌根, 华山松与 2 种乳牛肝菌的亲和性最好, 酒红蜡蘑仅能与 2 种外来松 *P. greggii* 和 *P. maximartinensis* 形成菌根, 且菌根合成成功率仅为 14.3%。此次合成的 10 种菌根组合均为首次报道, 其中同一种真菌与不同松形成的菌根在形态和解剖特征上较为接近。3 种真菌对宿主生长的促进作用因树种而异, 整体上外来松苗的生长速率要快于本土松苗; 华山松苗虽然菌根感染率最高, 但生长效应却均不明显。研究认为: 孢子接种对乳牛肝菌、蜡蘑等早期真菌的菌根合成研究是一种经济有效的手段; 外生菌根真菌可能对外来树种具有更为重要的作用, 与本土树种相比, 外来树种与外生菌根真菌在能否形成菌根、菌根形成时间以及对宿主的生长效应等方面存在差异, 需要开展进一步深入的相关研究。

**关键词:** 乳牛肝菌; 蜡蘑; 松属; 孢子接种; 菌根合成

[引用本文] 黄兰兰, 王冉, 时晓菲, 于富强, 2022. 早期真菌与本土和外来松的菌根合成. 菌物学报, 41(8): 1293-1302

Huang LL, Wang R, Shi XF, Yu FQ, 2022. Mycorrhizal synthesis of early stage fungi with native and exotic pines. Mycosystema, 41(8): 1293-1302

基金项目: 云南省重大科技专项计划(202102AE090034); 中国科学院昆明植物研究所引进优秀人才项目(Y9627111K1) Supported by the Projects from Yunnan Key Project of Science and Technology (202102AE090034), and Introduction of Excellent Talents Program, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences (Y9627111K1).

\*Corresponding author. E-mail: fquy@mail.kib.ac.cn

ORCID: HUANG Lanlan (0000-0003-2365-8027)

Received: 2021-12-09, accepted: 2021-12-17

# Mycorrhizal synthesis of early stage fungi with native and exotic pines

HUANG Lanlan<sup>1,2</sup>, WANG Ran<sup>1</sup>, SHI Xiaofei<sup>1</sup>, YU Fuqiang<sup>1\*</sup>

1 The Germplasm Bank of Wild Species, Yunnan Key Laboratory for Fungal Diversity and Green Development, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, Yunnan, China

2 College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650204, Yunnan, China

**Abstract:** The symbiotic characteristics of early stage fungi associated with native and exotic pines were explored. Axenically germinated seedlings of native (*Pinus yunnanensis* and *P. armandii*) and exotic (*P. greggii* and *P. maximartiniensis*) pines were inoculated with spore suspension of *Suillus luteus*, *S. phylopietus* and *Laccaria vinaceoavellanea* in the culture room. Six months later, *S. luteus* and *S. phylopietus* ectomycorrhizae were successfully produced on all four tested tree species, and *P. armandii* showed good receptivity to both *Suillus* species. However, *L. vinaceoavellanea* ectomycorrhizae were only found in *P. greggii* and *P. maximartiniensis*, with a low colonization rate of 14.3%. This is the first report about these ten mycorrhizal combinations, and the mycorrhizae synthesized by the same fungi morphologically and anatomically showed similar characters in all tested tree species. Plant growth affected by these three fungi varied with tree species, and the plant growth of exotic pines was much faster than that of native pines. Although the colonization rate of the *Suillus* species on *P. armandii* was the highest, their effects on host growth were not significant. This study suggests that spore inoculation is an economical and effective method to study the mycorrhizal synthesis of early stage fungi such as *Suillus* and *Laccaria* species. There were differences between native and exotic pines in mycorrhizal formation with early stage fungi, as well as the effects of formed mycorrhizae on host plant growth.

**Keywords:** *Suillus*; *Laccaria*; *Pinus*; spore inoculation; mycorrhizal synthesis

外生菌根菌(ectomycorrhizal fungi, EMF)是一类能与林木根系共生并形成外生菌根的真菌,许多 EMF 为野生食用菌,且对林木的生长有促进作用,具有重要的生态与经济价值(Murat *et al.* 2018; Tederso & Bahram 2019)。孢子、菌丝和菌根等是 EMF 维持与扩散的主要繁殖体,而孢子传播则是其最为重要的扩散形式,特别是对乳牛肝菌属 *Suillus*、蜡蘑属 *Laccaria* 和须腹菌属 *Rhizopogon* 等早期 EMF 来说,这些类群也被认为在先锋树种(如松属 *Pinus*)的定植、扩散与入侵中发挥着重要的作用(Bowen 1994; Vlk *et al.* 2020; Ning *et al.* 2021)。

菌根合成是开展 EMF 研究的基础,一方面,它是确定植物与 EMF 共生关系的有效方法,另一方面,它为可食用 EMF 的人工栽培提供可能(Guerin-Laguette 2021)。孢子和菌丝是菌根合成中最为常用的接种菌剂,其中后者需要先分离获取菌丝才能开展接种试验,其相较于孢子接种周期长、成本高,而且目前许多 EMF 的菌种分离与培养还十分困难,因此研发孢子接种在 EMF 菌根合成中的应用是外生菌根研究的重要方向。

松树是北半球温带森林的主要建群树种,也是我国重要的造林和用材树种,为此还从国外引

进了湿地松 *Pinus elliottii*、辐射松 *P. radiata* 等速生物种。许多 EMF 都能与松共生并形成外生菌根,除了乳牛肝菌、蜡蘑和须腹菌等先锋类群,也不乏具有较高经济价值的物种,如乳菇属松乳菇组的物种 *Lactarius* spp. section *Deliciosi*、块菌 *Tuber* spp.等(Wang 2012; Wang *et al.* 2019, 2020; Wu *et al.* 2019; 戴玉成等 2021)。

褐环乳牛肝菌 *Suillus luteus* (L.) Roussel、虎皮乳牛肝菌 *S. phylopiectus* Rui Zhang *et al.*和酒红蜡蘑 *Laccaria vinaceoavellanea* Hongo 是我国西南市场上常见的野生食用菌,常见于松林或针阔混交林下(杨祝良等 2021),其中前两者是松属专性共生类群,而后者宿主范围广,与针叶树、阔叶树都可以共生。目前,国内外关于乳牛肝菌的研究多集中于对宿主植物苗木生长、对重金属污染地的适应和提高植物抗旱与抗病性等方面(Colpaert *et al.* 2004, 2011; Krznaric *et al.* 2009; 翟帅帅等 2015; Peng *et al.* 2021; 尹大川和祁金玉 2021)。国际上, Yamada *et al.* (2001a, 2001b)对点柄乳牛肝菌 *S. granulatus* 与赤松 *P. densiflora* 的菌根合成、菌根形态以及出菇状况进行了详细报道。然而,在早期 EMF 与松树共生特性、菌根技术与外来松引种、菌根型食用菌人工栽培(培育)等方面的研究则十分有限。

本研究选用源自本地的 2 种松(云南松和华山松)和墨西哥的 2 种松(*P. greggii* 和 *P. maximartinensis*),同时选取乳牛肝菌属、蜡蘑属

的 3 种先期 EMF,在控制条件下利用孢子接种方法进行菌根合成,通过菌根宏观与显微观察、分子鉴定和种苗生长效应分析,探讨早期 EMF 与松树的共生特性,以期为植被恢复、外来树木引种、菌根型食用菌人工栽培(培育)等提供借鉴。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验树种包括云南松 *P. yunnanensis*、华山松 *P. armandii*、*P. greggii* 和 *P. maximartinensis* 4 种松,其中云南松和华山松种子来源于云南,*P. greggii* 和 *P. maximartinensis* 种子来源于墨西哥。所有种子均保存于 4 °C 下备用。供试菌种环褐乳牛肝菌 *S. luteus* 和虎皮乳牛肝菌 *S. phylopiectus* 采自云南弥勒华山松林下,酒红蜡蘑 *L. vinaceoavellanea* 购于昆明茨坝菜市场。将真菌新鲜材料进行记录和拍照(图 1),去除子实体表面杂质,再用 75%乙醇进行消杀,最后取子实层部分 4 °C 下保存备用。

### 1.2 育苗和接种

将松树种子表面清洁后浸泡于无菌水中并在 4 °C 冰箱放置 48 h,然后用 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 消毒 5–10 min;基质配比为松树皮、河沙和森林土(2:2:1, 体积比),121 °C、0.15 MPa 灭菌 2 次,间隔 2 d 每次 1 h,基质的最终 pH 值为 5.5;将消毒好的种子播于含有灭菌基质的育苗盒(体积



图 1 三种外生菌根真菌子实体 A: 褐环乳牛肝菌; B: 虎皮乳牛肝菌; C: 酒红蜡蘑. 标尺=2 cm

Fig. 1 Fruiting bodies of three ectomycorrhizal fungi. A: *Suillus luteus*; B: *S. phylopiectus*; C: *Laccaria vinaceoavellanea*. Bars=2 cm.

为 668 mL)中, 每盒播种 3–5 粒。待出苗后, 每盆只保留 1 株与其他处理长势一致的苗备用。取乳牛肝菌、蜡蘑子实层(菌管、菌褶)各 30 g, 碾磨后置于 100 mL 无菌水中制成悬浮液菌剂, 每盒(苗)接种 5 mL, 褐环乳牛肝菌、虎皮乳牛肝菌和酒红蜡蘑的接种孢子量分别为  $9 \times 10^7$  个/株、 $1.8 \times 10^8$  个/株和  $6.5 \times 10^6$  个/株, 对照苗加入 5 mL 无菌水。每个处理设 9 个重复, 试验苗置于 23–25 °C 培养间内, 浇灌使用无菌水。

### 1.3 分子鉴定

为确认合成的菌根组合, 采用 Doyle & Doyle (1987)的方法提取子实体和合成菌根的 DNA, 其中菌根取 3 个左右, 在体视镜下用毛刷刷掉表面基质并用蒸馏水清洗, 再进行 DNA 提取。用 ITS1F (5'-CTGGTCATTAGAGGAAGTAA-3')和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')引物进行核糖体 DNA ITS 区域的扩增(White *et al.* 1990; Gardes & Bruns 1993), 扩增片段测序后所得序列用 BioEdit 编辑, 在 NCBI 中进行比对(BLAST), 将相似度 $\geq 98\%$ 且碱基差异 5 个以内的鉴定为同一种。本研究所产生的序列均已上传至 GenBank。

### 1.4 菌根宏观和显微观察

接种 6 个月后, 在体视显微镜下观察确认有菌根形成后, 进行详细的菌根形态特征观察、记录和拍照; 用镊子摘取新鲜菌根并清理表面基质, 采用手动和冷冻切片机进行切片处理, 通过光学显微镜下进行菌根解剖特征观察、记录和拍照。

### 1.5 菌根侵染和松苗长势分析

接种 6 个月后, 计算菌根合成成功率(菌根合成成功率=形成菌根的松苗株数/接种的松苗总株数), 并依据 Murat (2015)的方法对菌根侵染率进行评估。

接种后第 2、4 和 6 个月分别测量松苗株高, 并用 Excel 进行数据处理和分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 菌根形成情况

接种 6 个月后, 褐环乳牛肝菌和虎皮乳牛肝菌分别与 4 种松均形成了菌根(图 2), 而酒红蜡蘑仅与两种外来松 *P. greggii* 和 *P. maximartinensis* 形成了菌根(图 3A, 3B), 与本地松无菌根形成。

菌根侵染情况见表 1, 其中两种乳牛肝菌与华山松亲和性最高, 菌根合成成功率达 100%, 且侵染率高达 70%–90%。其次是云南松, 分别与褐环乳牛肝菌和虎皮乳牛肝菌的合成成功率为 88.9%和 66.7%, 且与褐环乳牛肝菌有 77.8%的苗的侵染率高达 70%–90%。另外, 3 种菌中, 褐环乳牛肝菌与 4 个树种合成菌根情况最好, 菌根合成成功率达 81.6%, 而酒红蜡蘑与 4 种松形成菌根的情况最差, 菌根合成成功率仅为 14.3%, 其与本地两种松均未形成菌根, 与外来树种 *P. greggii* 和 *P. maximartinensis* 形成的菌根仅有 1 株和 4 株, 侵染率分别为 40%–50%和 1%–10%。对照苗根部未发现任何外生菌根, 所有试验苗均未发现其他外生菌根真菌污染。

### 2.2 分子鉴定结果

本研究所有从子实体和菌根中获得的 ITS 序列均上传到 GenBank。从 3 种 EMF 子实体来源的 ITS 序列分别与 GenBank 中的褐环乳牛肝菌(MH878756.1)、虎皮乳牛肝菌(MK188416.1)和酒红蜡蘑(MW577310.1)具有 100%、99.54%和 100%的相似性。从褐环乳牛肝菌与云南松、华山松、*P. greggii* 和 *P. maximartinensis* 形成的菌根中获得的 ITS 序列与 GenBank 中褐环乳牛肝菌参考序列(MH878756.1)分别具有 100%、100%、99.69%和 99.84%相似性; 从虎皮乳牛肝菌与 4 种松形成的菌根获得的 ITS 序列与虎皮乳牛肝菌参考序列(MK188436.1)均展示出 100%相似性; 从酒红蜡蘑与国外两种松形成的菌根获得的 ITS 序列与 GenBank 中酒红蜡蘑参考序列

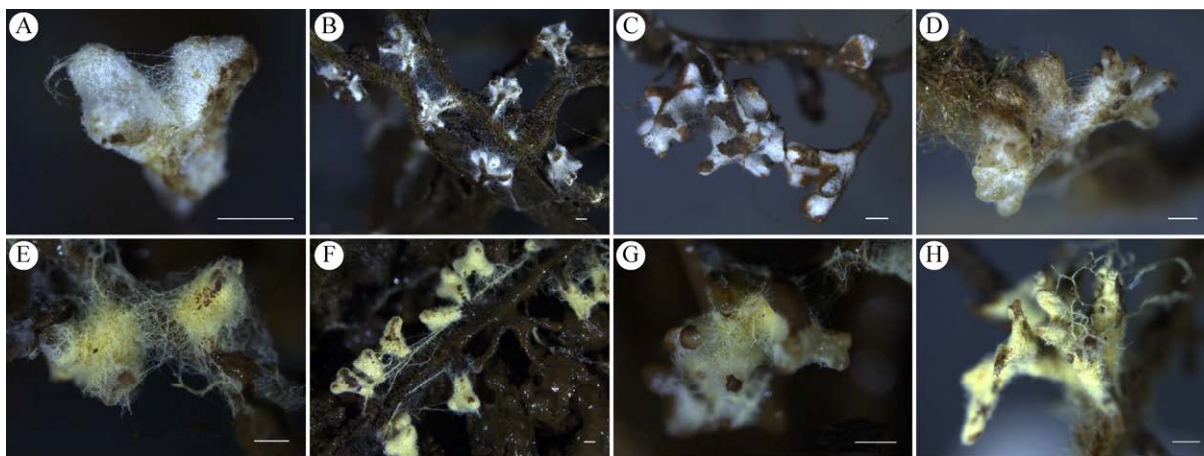


图2 两种乳牛肝菌与4种松形成菌根的形态 A-D: 褐环乳牛肝菌与4种松形成菌根的形态. A: 云南松; B: 华山松; C: *Pinus greggii*; D: *Pinus maximartiniensis*. E-H: 虎皮乳牛肝菌与4种松形成菌根的形态. E: 云南松; F: 华山松; G: *Pinus greggii*; H: *Pinus maximartiniensis*. 标尺=0.5 mm

Fig. 2 The morphology of mycorrhiza formed by two species of *Suillus* and four kinds of pine. A-D: The morphology of mycorrhiza formed by *Suillus luteus* and four kinds of pine. A: *Pinus yunnanensis*; B: *P. armandii*; C: *P. greggii*; D: *P. maximartiniensis*. E-H: The morphology of mycorrhiza formed by *Suillus phyllopius* and four kinds of pine. E: *P. yunnanensis*; F: *P. armandii*; G: *P. greggii*; H: *P. maximartiniensis*. Bars=0.5 mm.

(MW577309.1)均具有100%的相似性。所有保存在GenBank中的菌种子实体和菌根ITS序列号见表2。

### 2.3 菌根宏观和显微特征

同种EMF与4种松形成的菌根形态极为相似。褐环乳牛肝菌与4种松形成的菌根呈明显的二叉状或珊瑚状，菌丝白色，有外延菌丝和菌索结构(图2A-2D)，菌套厚10-16  $\mu\text{m}$ ，排列紧密，在皮层细胞间隙有明显的哈蒂氏网(图3C)；虎皮乳牛肝菌与4种松形成的菌根大部分呈明显的二叉状，部分为珊瑚状，菌丝浅黄色，有外延菌丝和菌索结构(图2E-2H)，菌套厚16-23  $\mu\text{m}$ ，排列紧密，在皮层细胞间隙有明显的哈蒂氏网(图3D)；酒红蜡蘑与两种外来松形成的菌根呈二叉状或珊瑚状，菌丝白色，有外延菌丝，无菌索结构(图3A, 3B)，菌套厚10-15  $\mu\text{m}$ ，排列紧密，在皮层细胞间隙有明显的哈蒂氏网(图3E)。

### 2.4 松苗生长效应

株高是衡量植物生长的重要指标，接种3种

EMF能够提高除华山松外其他3种松的株高(图4)，但不同组合的促进作用存在较大差异。接种虎皮乳牛肝菌能显著提高云南松的株高( $P<0.01$ )，但对其他3种松的株高无显著影响。接种褐环乳牛肝菌和酒红蜡蘑均能显著提高 *P. greggii* ( $P<0.01$ ,  $P<0.01$ )和 *P. maximartiniensis* ( $0.01<P<0.05$ ,  $P<0.01$ )的株高，但对云南松和华山松株高的影响不显著。另外，接种3种EMF对华山松的株高均无显著影响。

在接种后第2月、第4月和第6月分别测量苗高，接种后半年内4种松苗高生长变化趋势见图5。接种两个月后，本地松(云南松和华山松)的苗高明显高于对照，而外来松与对照苗高则差异较小。接种4个月后，本地松未接种苗长势明显减缓，2种外地松未接种苗的长势分别表现出未明显减缓和长势加快的趋势，而所有接种苗均表现出持续的生长趋势。3种EMF接种对本地松和外来松在第2-4月、第4-6月长势的影响几乎一致。接种乳牛肝菌对 *P. greggii* 在第2-4月



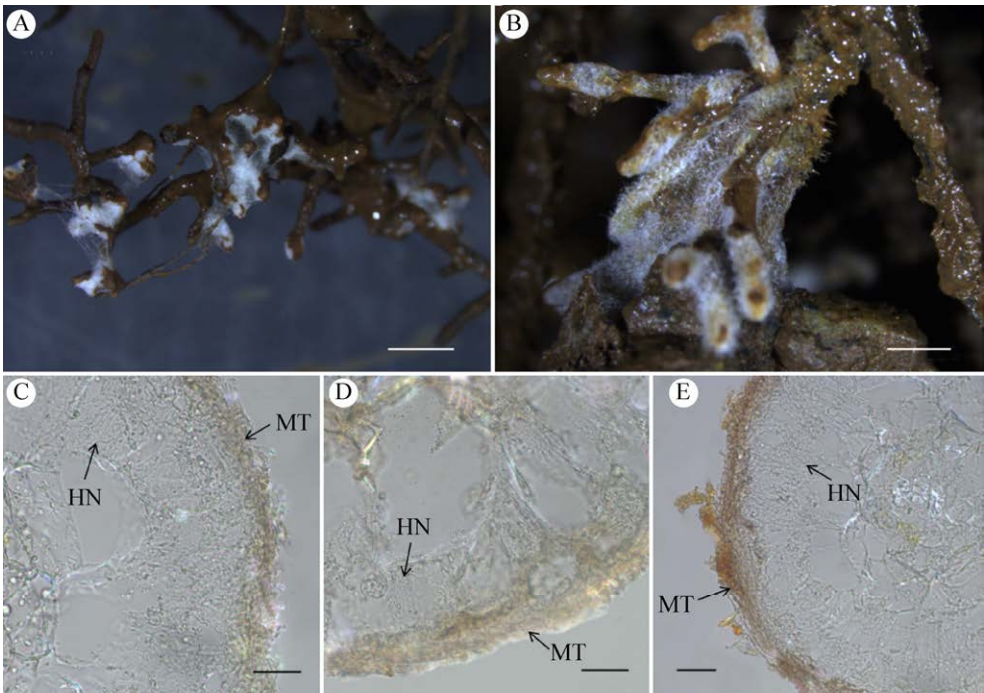


图 3 酒红蜡蘑与两种松形成的菌根以及 3 种 ECM 的菌根解剖结构 A, B: 酒红蜡蘑与 2 种松菌根形态. A: *Pinus greggii*; B: *P. maximartiniensis*, 标尺=2 mm. C–E: 3 种 ECM 的菌根解剖结构. C: 褐环乳牛肝菌与云南松的菌根横切面; D: 虎皮乳牛肝菌与云南松的菌根横切面; E: 酒红蜡蘑与 *P. greggii* 的菌根横切面. MT: 菌套; HN: 哈蒂氏网, 标尺=20 μm

Fig. 3 Morphology of mycorrhiza of *Laccaria vinaceoavellanea* associated with two pine and anatomical structure of mycorrhizae of three ECM. A, B: *L. vinaceoavellanea* mycorrhizal morphology associated with two pine. A: *Pinus greggii*; B: *P. maximartiniensis*, bars=2 mm. C–E: Anatomical structure of mycorrhizae on *P. yunnanensis* roots colonized by three ECM fungi. C: Ectomycorrhiza cross-sections of *Suillus luteus* with *P. yunanaensis*; D: Ectomycorrhiza cross-sections of *S. phylopius* associated with *P. yunanaensis*; E: Ectomycorrhiza cross-sections of *L. vinaceoavellanea* associated with *P. greggii*; MT: Matle; HN: Hartig net, bars=20 μm.

表 1 三种早期真菌与本地和外来松不同组合的菌根侵染率

Table 1 Mycorrhizal colonization rates of different combinations of 3 early stage fungi with native and exotic pine species

树种	褐环乳牛肝菌	虎皮乳牛肝菌	酒红蜡蘑
Tree species	<i>Suillus luteus</i>	<i>Suillus phylopius</i>	<i>Laccaria vinaceoavellanea</i>
	高/中/低/无	高/中/低/无	高/中/低/无
	High/moderate/low/no	High/moderate/low/no	High/moderate/low/no
云南松	7/0/1/1	0/1/5/3	0/0/0/9
<i>Pinus yunnanensis</i>			
华山松	9/0/0/0	9/0/0/0	0/0/0/9
<i>P. armandii</i>			
<i>P. greggii</i>	5/1/1/1	0/0/2/4	0/1/0/8
<i>P. maximartiniensis</i>	0/0/6/3	0/0/2/7	0/0/4/4

注：“高/中/低/无”：菌根侵染率高 70%–90%/菌根侵染率中 40%–50%/菌根侵染率低 1%–10%/无菌根  
Note: “High/moderate/low/no”: High mycorrhizal colonization rate, 70%–90%/moderate mycorrhizal colonization rate, 40%–50%/low mycorrhizal colonization rate, 1%–10%/no mycorrhiza.

表 2 本研究产生的所有保存于 GenBank 中的 ITS 序列号

Table 2 ITS sequence deposited in GenBank determined in this study

序列来源	褐环乳牛肝菌	虎皮乳牛肝菌	酒红蜡蘑
Sequence source	<i>Suillus luteus</i>	<i>Suillus phylopicus</i>	<i>Laccaria vinaceoavellanea</i>
子实体	OL314626	OL314631	OL314636
Fruiting body			
云南松	OL314627	OL314632	NA
<i>Pinus yunnanensis</i>			
华山松	OL314628	OL314633	NA
<i>P. armandii</i>			
<i>P. greggii</i>	OL314629	OL314634	OL314637
<i>P. maximartinesis</i>	OL314630	OL314635	OL314638

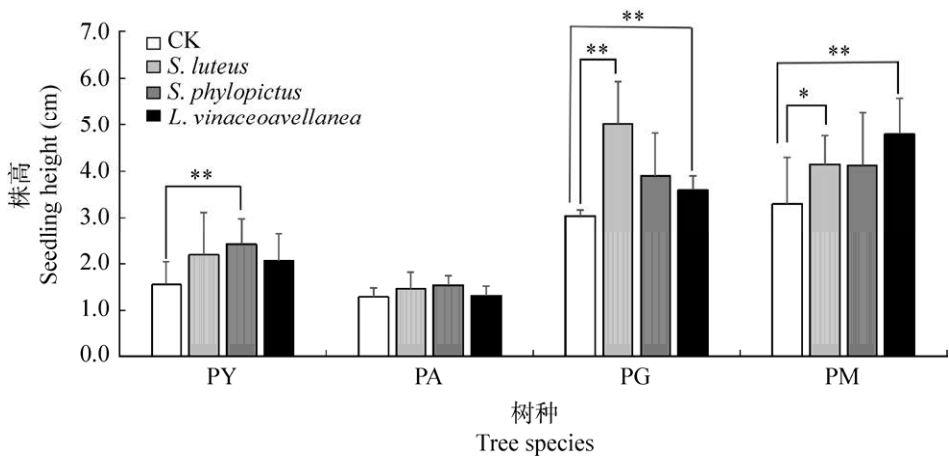


图 4 三种 EMF 接种对 4 种松苗高的影响 \*表明不同 EMF 接种后与对照松苗高的显著性差异, \*0.01<P<0.05, \*\*P<0.01

Fig. 4 Effects of three EMF inoculation on seedling height of four species of *Pinus*. \* Indicates significant difference between the treatment and control of the same tree species. \* 0.01<P<0.05, \*\* P<0.01. PY: *Pinus yunnanensis*; PA: *P. armandii*; PG: *P. greggii*; PM: *P. maximartinesis*.

长势较第 4–6 月慢,但对 *P. maximartinesis* 的长势影响在第 2–4 月和第 4–6 月几乎一致。值得注意的是,接种酒红蜡蘑对 *P. maximartinesis* 在第 2–4 月、第 4–6 月长势的影响基本相同,明显优于接种乳牛肝菌。

### 3 讨论

以往乳牛肝菌和蜡蘑的菌根合成研究大多采用菌丝接种,本研究首次报道利用孢子接种成功合成 2 种乳牛肝菌与 4 种本地和外来松以及酒红蜡蘑与 2 种外来松的菌根,所形成的 10 种菌根组合皆为首次报道。显微观察发现,同一 EMF 接种不同种松所形成的菌根在形态和解剖特征

上具有高度相似性,这种相似性受 EMF 遗传特性的影响,同样的现象也发生在 Huang *et al.* (2021)对假喜马拉雅块菌 *Tuber pseudohimalayense* 与不同宿主合成的菌根中。然而,同属不同种 EMF 与同一种松形成的菌根,形态较为相似,但菌丝颜色上有明显差别,这种差异可为生产中菌根的形态鉴定提供重要参考。另外,本研究在控制条件下获得的乳牛肝菌菌根形态与 Yamada *et al.* (2001a)用菌丝接种合成的菌根极为相似,而与冯万艳等(2019a)在野外采到的乳牛肝菌菌根形态差异显著,这可能是菌根生长环境或发育阶段的不同所致。本研究获得的蜡蘑菌根形态与 Rodríguez-Gutiérrez *et al.* (2019)用 *L.*

*trichodermorphora* 孢子接种 *P. fluorescens* 和 *P. montezumae* 获得的菌根相似, 菌根表面均有一层薄薄的菌丝, 但与其他 EMF 类群形成的菌根差别较大, 这可能是不同菌种的遗传差异所致。另外, 3 种 ECM 的菌根解剖特征也较为相似, 均在外层皮层细胞间形成明显的哈蒂氏网, 仅菌套厚度存在一定的差异(图 3C–3E)。

乳牛肝菌与松科植物专性共生, 能与褐环乳牛肝菌形成菌根的有马尾松 *P. massoniana*、樟子松 *P. sylvestris* var. *mongolica*、油松 *P. tabulaeformis*、赤松 *P. densiflora* 和美国黄松 *P. ponderosa* (Lu *et al.* 2016; 冯万艳等 2019a, 2019b; Gonthier *et al.* 2019; Zhang *et al.* 2019)。目前, 还未见关于虎皮乳牛肝菌和酒红蜡蘑菌根的报道。在我国西南虎皮乳牛肝菌主要生长在华山松等五针松下, 而酒红蜡蘑则生于亚热带至温

带阔叶林或针阔叶混交林中(杨祝良等 2021)。本研究发现酒红蜡蘑与两种外来松更加亲和, 而乳牛肝菌与两种本地松的亲合性更高(菌根合成成功率更高), 这可能与酒红蜡蘑的广谱共生和乳牛肝菌的专性共生特性有关, 这为松树造林和引种中共生 EMF 的选择提供了依据。

多数研究表明 EMF 能促进宿主植物生长和养分(尤其是 P)吸收, 同时还能增强宿主的抗逆性(Colpaert *et al.* 2011; Yin *et al.* 2017; Shinde *et al.* 2018; Tedersoo & Bahram 2019)。本研究发现不同 EMF 对宿主生长的促进作用存在着较大的差异, 从菌根苗的生长速率来看, 本地树种较为接近, 外来树种则相对更快, 尤其是 *P. greggii*, 这表明 EMF 可能对外来树种具有更为重要的作用, 因此在树木引种过程中, EMF 应该作为一个重要因素考虑。另外两种乳牛肝菌接种后能促

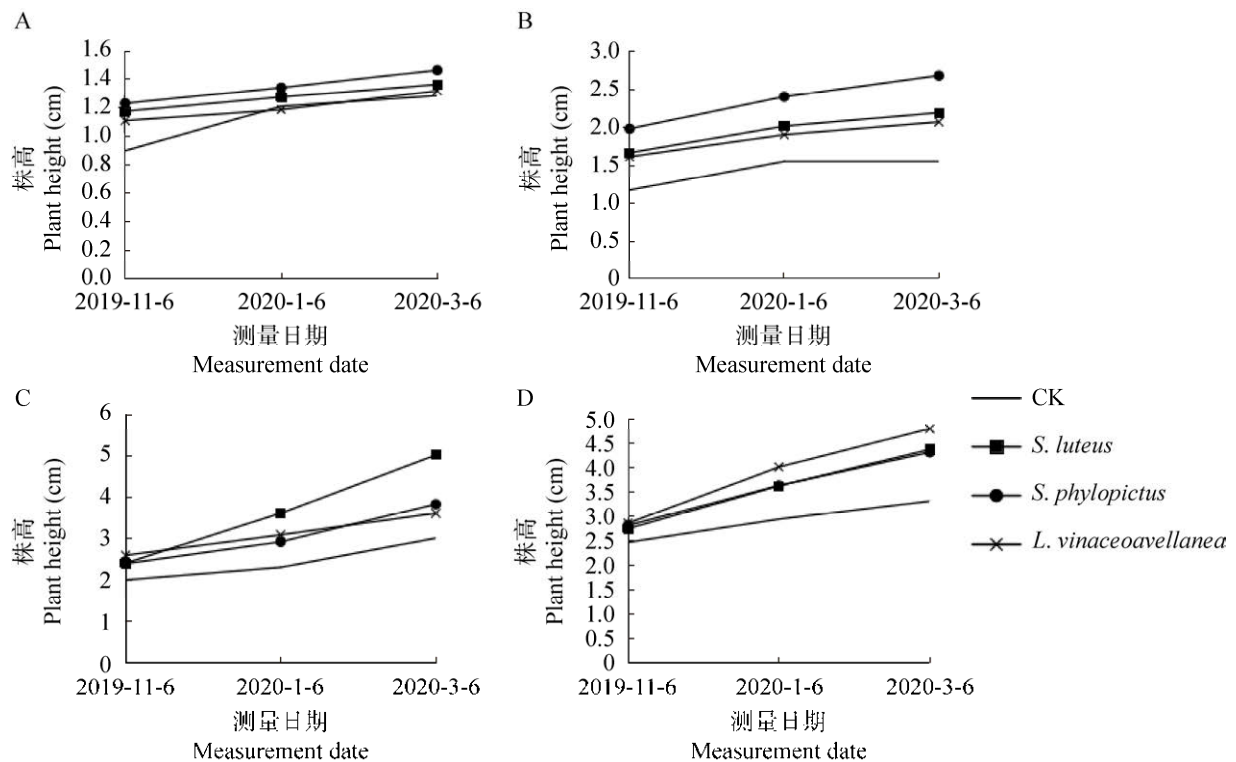


图 5 三种 EMF 接种后对 4 种松苗高动态变化的影响 A–D: 4 种松株高的动态变化. A: 华山松; B: 云南松; C: *Pinus greggii*; D: *P. maximartiniensis*

Fig. 5 Effects of three EMF on the dynamic change of seedling height of four species of *Pinus*. A–D: Dynamic change of seedling height of four species of *Pinus*. A: *P. armandii*; B: *P. yunnanensis*; C: *P. greggii*; D: *P. maximartiniensis*.



进云南松、*P. greggii* 和 *P. maximartinensis* 的生长,但对华山松却没有显著影响,值得注意的是,华山松与两种乳牛肝菌形成的菌根情况最好,这可能与华山松的生长特性或试验的周期有关。接种 EMF 2 个月后本土松苗的长势就显著高于对照组,而外来松苗 4 个月后才表现出相同趋势,这意味着本土松和外来松在与 EMF 形成菌根的时间上可能存在着差异。研究仅在接种 6 个月后进行菌根采样,宿主生长效应也仅对苗高进行了为期半年的测量分析,因此无法对菌根形成的时间、对宿主生长的中长期效应等做出判断和分析,需要开展进一步的深入研究。

本研究通过孢子接种合成了褐环乳牛肝菌、虎皮牛肝菌和酒红蜡蘑与松的菌根,与菌丝接种相比大大节约了时间和成本,其中 3 种 EMF 都具有一定的食用价值,有的还促进宿主的生长,这为松树菌根化育苗和部分食用 EMF 的人工栽培提供了重要方法和途径。

致谢:感谢墨西哥 Jesús Pérez-Moreno 教授提供试验材料和指导,中国科学院昆明植物研究所汪延良博士对论文的修改提出意见和建议,中国科学院昆明植物研究所刘建伟提供褐环乳牛肝和酒红蜡蘑生境图。

## [REFERENCES]

Bowen GD, 1994. The ecology of ectomycorrhiza formation and functioning. *Plant and Soil*, 159: 61-67

Colpaert JV, Muller LAH, Lambaerts M, Adriaensen K, Vangronsveld J, 2004. Evolutionary adaptation to Zn toxicity in populations of suilloid fungi. *New Phytologist*, 162(2): 549-559

Colpaert JV, Wevers JHL, Krznanic E, Adriaensen K, 2011. How metal-tolerant ecotypes of ectomycorrhizal fungi protect plants from heavy metal pollution. *Annals of Forest Science*, 68(1): 17-24

Dai YC, Yang ZL, Cui BK, Wu G, Yuan HS, Zhou LW, He SH, Ge ZW, Wu F, Wei YL, Yuan Y, Si J, 2021. Diversity and systematics of the important macrofungi in Chinese forests. *Mycosystema*, 40(4): 770-805 (in Chinese)

Doyle JJ, Doyle JL, 1987. A rapid DNA isolation procedure from small quantities of fresh leaf tissues.

*Phytochemistry Bulletin*, 19: 11-15

Feng WY, Hu D, Feng JW, Chen YQ, Guo QQ, Sun XG, 2019a. Characterization of two edible mycorrhizal species of *Suillus* in masson pine forest. *Mycosystema*, 38(6): 792-801 (in Chinese)

Feng WY, Zhao YZ, Tan JH, Yang ZQ, Sun XG, 2019b. Establishment of *Pinus massoniana* - *Suillus bovinus* symbiosis. *Mycosystema*, 38(10): 1620-1630 (in Chinese)

Gardes M, Bruns TD, 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology Resources*, 2: 113-118

Gonthier P, Giordano L, Zampieri E, Lione G, Vizzini A, Colpaert JV, Balestrini R, 2019. An ectomycorrhizal symbiosis differently affects host susceptibility to two congeneric fungal pathogens. *Fungal Ecology*, 39: 250-256

Guerin-Laguette A, 2021. Successes and challenges in the sustainable cultivation of edible mycorrhizal fungi - furthering the dream. *Mycoscience*, 62: 10-28

Huang LL, Guerin-Laguette A, Wang R, Li YM, Yu FQ, 2021. Mycorrhizal synthesis of *Tuber pseudohimalayense* with seven broadleaved trees and *Pinus armandii*. *Mycoscience*, 62: 322-330

Krznanic E, Verbruggen N, Wevers JH, Carleer R, Vangronsveld J, Colpaert JV, 2009. Cd-tolerant *Suillus luteus*: a fungal insurance for pines exposed to Cd. *Environment Pollution*, 157(5): 1581-1588

Lu N, Yu M, Cui M, Luo Z, Feng Y, Cao S, Sun YH, Li Y, 2016. Effects of different ectomycorrhizal fungal inoculates on the growth of *Pinus tabulaeformis* seedlings under greenhouse conditions. *Forests*, 7(12): 316

Murat C, 2015. Forty years of inoculating seedlings with truffle fungi: past and future perspectives. *Mycorrhiza*, 25: 77-81

Murat C, Payen T, Noel B, Kuo A, 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, Dockter RB, Fauchery L, Guy J, Lotti M, Le Tacon F, Lindquist EA, Lipzen A, Malagnac F, Mello A, Molinier V, Miyauchi S, Poulain J, Riccioni C, Rubini A, Sitrit Y, Splivallo R, Traeger S, Wang M, Žifčáková L, Wipf D, Zambonelli A, Paolocci F, Nowrousian M, Ottonello S, Baldrian P, Spatafora JW, Henrissat B, Nagy LG, Aury JM, Wincker P, Grigoriev LV, Bonfante P, Martin FM, 2018. Pezizomycetes genomes reveal the molecular basis of ectomycorrhizal truffle lifestyle. *Nature Ecology & Evolution*, 2: 1956-1965

Ning C, Egerton-Warburton LM, Mueller GM, Xiang W, Yan W, Liu S, 2021. Shifts in ectomycorrhizal fungal community composition during the early establishment

- of native and exotic pine seedlings. *Applied Soil Ecology*, 157: 103722
- Peng L, Li Y, Huang J, Yuan L, 2021. Soil phosphorus mobilization and utilization by *Suillus* isolates and *Suillus*-mycorrhized pine plants. *Forest Ecology and Management*, 483: 118772
- Rodríguez-Gutiérrez I, Ramírez-Martínez D, Garibay-Orijel R, Jacob-Cervantes V, Pérez-Moreno J, Ortega-Larrocea MP, Arellano-Torres E, 2019. Sympatric species develop more efficient ectomycorrhizae in the *Pinus-Laccaria* symbiosis. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 90: e902868
- Shinde S, Naik D, Cumming JR, 2018. Carbon allocation and partitioning in *Populus tremuloides* are modulated by ectomycorrhizal fungi under phosphorus limitation. *Tree Physiology*, 38: 52-65
- Tedersoo L, Bahram M, 2019. Mycorrhizal types differ in ecophysiology and alter plant nutrition and soil processes. *Biological Reviews*, 94: 1857-1880
- Vlk L, Tedersoo L, Antl T, Větrovsk T, Abarenkov K, Pergl J, Albrechtová J, Vosátka M, Baldrian P, Pyek P, Kohout P, 2020. Early successional ectomycorrhizal fungi are more likely to naturalize outside their native range than other ectomycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 227: 1289-1293
- Wang R, Guerin-Laguette A, Huang LL, Wang XH, Butler R, Wang Y, Yu FQ, 2019. Mycorrhizal syntheses between *Lactarius* spp. Section *Deliciosi* and *Pinus* spp. and the effects of grazing insects in Yunnan, China. *Canadian Journal of Forest Research*, 49: 616-627
- Wang R, Yu FQ, Moreno JP, Colinas C, 2020. A new edible *Rhizopogon* species from Southwest China, and its mycorrhizal synthesis with two native pines. *Mycorrhiza*, 30: 85-92
- Wang XH, 2012. Truffle cultivation in China. In: Zambonelli A, Bonito GM (eds.) *Edible ectomycorrhizal mushrooms*. Springer Verlag, Berlin. 227-240
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW, 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds.) *PCR Protocols*. Academic Press, San Diego. 315-322
- Wu F, Zhou LW, Yang ZL, Bau T, Li TH, Dai YC, 2019. Resource diversity of Chinese macrofungi: edible, medicinal and poisonous species. *Fungal Diversity*, 98: 1-76
- Yamada A, Ogura T, Ohmasa M, 2001a. Cultivation of mushrooms of edible ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus densiflora* by *in vitro* mycorrhizal synthesis - I. Primordium and basidiocarp formation in open-pot culture. *Mycorrhiza*, 11: 59-66
- Yamada A, Ogura T, Ohmasa M, 2001b. Cultivation of mushrooms of edible ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus densiflora* by *in vitro* mycorrhizal synthesis - II. Morphology of mycorrhizas in open-pot soil. *Mycorrhiza*, 11: 67-81
- Yang ZL, Wu G, Li YC, Wang XH, Cai Q, 2021. Common edible and poisonous mushrooms of Southwest China. Science Press, Beijing. 1-370 (in Chinese)
- Yin D, Song R, Qi J, Deng X, 2017. Ectomycorrhizal fungus enhances drought tolerance of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* seedlings and improves soil condition. *Journal of Forestry Research*, 29(6): 1775-1788
- Yin DC, Qi JY, 2021. Regulation of *Suillus luteus* on the growth of *Pinus sylvestris* var. *mongolica*: influencing the hormone and metabolite content of the seedlings. *Mycosystema*, 40(10): 2811-2820 (in Chinese)
- Zhai SS, Ding GJ, Wang Y, Luo XM, Li M, 2015. Effects of *Suillus luteus* on root architecture of *Pinus massoniana*. *Journal of Forest and Environment*, 35(3): 243-248 (in Chinese)
- Zhang S, Vaario LM, Xia Y, Matsushita N, Geng Q, Tsuruta M, Kurokuchi H, Lian C, 2019. The effects of co-colonising ectomycorrhizal fungi on mycorrhizal colonisation and sporocarp formation in *Laccaria japonica* colonising seedlings of *Pinus densiflora*. *Mycorrhiza*, 29(3): 207-218

#### [附中文参考文献]

- 戴玉成, 杨祝良, 崔宝凯, 吴刚, 袁海生, 周丽伟, 何双辉, 葛再伟, 吴芳, 魏玉莲, 员瑗, 司静, 2021. 中国森林大型真菌重要类群多样性和系统学研究. *菌物学报*, 40(4): 770-805
- 冯万艳, 胡丹, 冯婧玮, 陈雨倩, 郭其强, 孙学广, 2019a. 两种乳牛肝菌属菌根食用菌与马尾松的共生特征. *菌物学报*, 38(6): 792-801
- 冯万艳, 赵燕珍, 谭健晖, 杨章旗, 孙学广, 2019b. 马尾松与粘盖乳牛肝菌菌根共生体形成过程. *菌物学报*, 38(10): 1620-1630
- 杨祝良, 吴刚, 李艳春, 王向华, 蔡箐, 2021. 中国西南地区常见食用菌和毒菌. 北京: 科学出版社. 1-370
- 尹大川, 祁金玉, 2021. 褐环乳牛肝菌对樟子松生长的调控——影响激素和代谢产物含量. *菌物学报*, 40(10): 2811-2820
- 翟帅帅, 丁贵杰, 王艺, 罗晓蔓, 李敏, 2015. 褐环乳牛肝菌对马尾松幼苗根系构型的影响. *森林与环境学报*, 35(3): 243-248