



● 栾庆书 王琴 赵瑞兴 刘剑郁 编著

外生菌根真菌研究法

Researches on Ectomycorrhizal Fungi



 辽宁科学技术出版社
LIAONING SCIENCE AND TECHNOLOGY PUBLISHING HOUSE

辽宁省优秀自然科学著作

外生菌根真菌研究法

栾庆书 王 琴 赵瑞兴 刘剑郁 编著

辽宁科学技术出版社

沈 阳

© 2014 栾庆书 王 琴 赵瑞兴 刘剑郁

图书在版编目 (CIP) 数据

外生菌根真菌研究法 / 栾庆书等编著. —沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2014.4

(辽宁省优秀自然科学著作)

ISBN 978-7-5381-8541-6

I. ①外… II. ①栾… III. ①外生菌根—研究
IV. ①Q949.32

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 049899 号

出版发行: 辽宁科学技术出版社

(地址: 沈阳市和平区十一纬路 29 号 邮编: 110003)

印刷者: 沈阳新华印刷厂

经销者: 各地新华书店

幅面尺寸: 185 mm × 260 mm

印 张: 17.25

字 数: 370 千字

印 数: 1~1000

出版时间: 2014 年 4 月第 1 版

印刷时间: 2014 年 4 月第 1 次印刷

责任编辑: 李伟民

特邀编辑: 王奉安

封面设计: 嵘 嵘

责任校对: 周 文

书 号: ISBN 978-7-5381-8541-6

定 价: 50.00 元

联系电话: 024-23284360

邮购电话: 024-23284502

<http://www.lnkj.com.cn>

《辽宁省优秀自然科学著作》评审委员会

主 任：

康 捷 辽宁省科学技术协会党组书记、副主席

执行副主任：

黄其励 东北电网有限公司名誉总工程师

中国工程院院士

辽宁省科学技术协会副主席

副主任：

金太元 辽宁省科学技术协会副主席

宋纯智 辽宁科学技术出版社社长兼总编辑 编审

委 员：

郭永新 辽宁大学副校长

陈宝智 东北大学安全工程研究所所长

刘文民 大连船舶重工集团有限公司副总工程师

李天来 沈阳农业大学副校长

刘明国 沈阳农业大学林学院院长

邢兆凯 辽宁省林业科学研究院院长

辽宁省科学技术协会委员

吴春福 沈阳药科大学校长

辽宁省科学技术协会常委

张 兰 辽宁中医药大学附属医院副院长

王恩华 中国医科大学基础医学院副院长

李伟民 辽宁科学技术出版社总编室主任 编审

前 言

外生菌根是土壤真菌与植物根系形成的一种互惠共生体，目前已报道的外生菌根真菌有8 000多种，具有丰富的多样性。外生菌根真菌广泛存在于森林生态系统中，是森林生态系统的重要组成部分。早在数百万年前，外生菌根就与古老的陆生植物形成了共生体，在漫长的生态系统演化过程中，菌根真菌与植物相互作用、协同进化，并在生态系统的演化过程中发挥重要功能。

外生菌根真菌一方面从植物获取碳水化合物满足生长需求，同时又帮助植物吸收无机营养物质，促进宿主的生长和提高抵抗不良环境压力的能力。外生菌根真菌作为生态系统的重要组成部分，是土壤微生物中生物量最大的类群，是连接绿色植物和食真菌者食物链的重要一环，在生态系统的物质和能量循环中处于关键地位；外生菌根真菌通过地下菌丝网络将同种或不同种植物联系起来，实现营养物质的再分配和循环，对植物种间和个体间的生长竞争、植物群落的组成和多样性的维持具有重要的作用；外生菌根真菌与土壤微生物间存在有益或拮抗关系，可直接或间接地影响根际生物区系的组成、数量和功能；外生菌根真菌是生态系统演替过程的指示者，其种类和数量可以指示生态系统中自然或人类活动引起的变化，在生态系统的保护、恢复或重建过程中发挥重要功能。同时，一些极具经济价值的食、药用真菌也是外生菌根菌。外生菌根真菌作为一个具有重要经济和生态学意义的生物类群，对于保护和科学地利用地球生物的多样性具有重要意义。因此，进行菌根真菌研究具有重要的科学与实践意义。不管是发达国家还是发展中国家都很重视外生菌根真菌的研究与利用，外生菌根生物技术在林业生产和生态建设中发挥着重要作用。

菌根学是一门新兴学科，近10年取得了迅速的发展。现有的为数不多的菌根学方面的专著已经不能满足外生菌根真菌研究和生产中的需求。作为辽宁省林业厅直属科研单位的工作人员，外生菌根和外生菌根真菌一直是我們重点关注的研究领域，也曾发表过几十篇拙作，其中SCI研究论文多篇。2000年至今曾获得国家科技进步一等奖1项，主持获得辽宁省政府二等奖1项，辽宁省科技成果转化奖励三等奖1项，辽宁林业科学技术一等奖2项以及梁希科学技术奖和辽宁省自然科学学术成果奖等。在十几年工作积累的基础上，总结国内外研究进展，完成《外生菌根真菌研究法》。全书共分12章，包括外生菌根概述、外生菌根真菌的分类、辽东栎外生菌根真菌多样性和季节动态变化、油松外生菌根真菌组成和形态描述、栲树外生菌根真菌组成与形态描述、外生菌根真菌的分离、培养和繁殖技术、外生菌根真菌的生物学特性测试、外生菌根生物技术的开发与利用、菌根际微生物、外生菌根真菌对病原菌的抑制作用机理及测定技术、农药对外生菌根的影响和外生菌根真菌对重金属吸附、有机污染物的降解作用。

鉴于我国外生菌根发展的实际需求和作者的研究工作，在编著过程中，本书在内容上有所侧重。作为一门新兴的发展学科，随着探索的深入，外生菌根真菌学的有些领域研究内容必将得到进一步的补充和完善。由于作者水平有限，疏漏甚至错误恐所难免，敬请同行专家、广大读者不吝指教。

在本书的编著过程中，作者得到辽宁省林业科学研究院领导和同事的大力支持 and 鼓励，在此致以诚挚的感谢。

编著者

2013年夏于沈阳

目 录

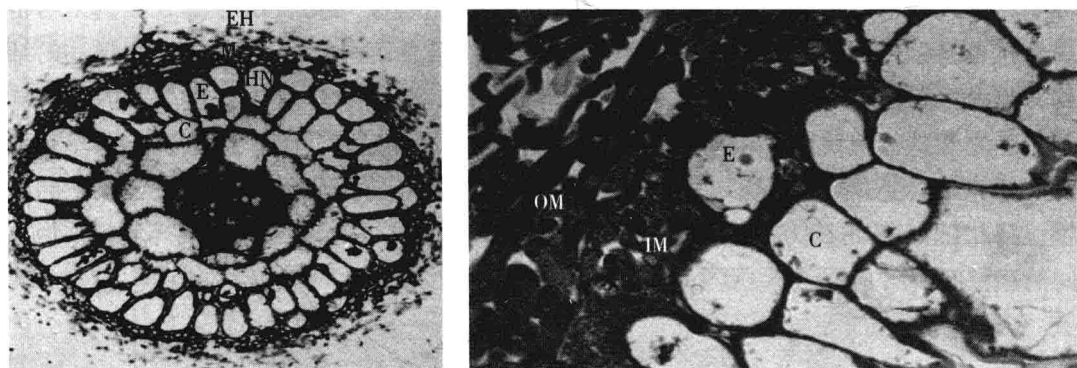
1	外生菌根概述	001
1.1	菌根和外生菌根	001
1.2	外生菌根应用研究的意义	006
1.3	外生菌根应用研究进展	010
2	外生菌根真菌的分类	014
2.1	外生菌根真菌的分类地位	014
2.2	外生菌根真菌的一般形态	015
2.3	分属特征	017
2.4	外生菌根真菌的分类鉴定方法	023
2.5	外生菌根鉴定	062
3	辽东栎外生菌根真菌多样性和季节动态变化	065
3.1	材料方法	066
3.2	结果	071
3.3	讨论	095
3.4	小结	097
4	油松外生菌根真菌组成和形态描述	098
4.1	材料方法	098
4.2	结果	100
4.3	讨论	117
4.4	小结	119
5	栲树外生菌根真菌组成与形态描述	121
5.1	材料方法	121
5.2	结果	122

5.3	讨论	133
5.4	小结	135
6	外生菌根真菌的分离、培养和繁殖技术	137
6.1	外生菌根真菌的分离	137
6.2	外生菌根真菌的培养	140
6.3	外生菌根真菌的扩大繁殖	157
6.4	外生菌根真菌的菌种保藏	159
7	外生菌根真菌的生物学特性测试	163
7.1	测定方法与实例	164
7.2	测试实例分析	165
7.3	结论与分析	183
8	外生菌根生物技术的开发与利用	186
8.1	外生菌根生物技术	186
8.2	外生菌根生物技术的应用	189
9	菌根际微生物	194
9.1	外生菌根根际微生物测试方法	194
9.2	菌根际微生物类群的测试实例	196
10	外生菌根真菌对病原菌的抑制作用机理及测定技术	206
10.1	外生菌根真菌对病原菌的抑制作用机理	206
10.2	外生菌根共生体对病原菌拮抗作用机制	209
10.3	外生菌根真菌对病原菌抑制作用测定方法	212
11	农药对外生菌根的影响	234
11.1	外生菌根真菌受农药干扰研究现状	234
11.2	农药对外生菌根的影响测试	242
11.3	结果与分析	250
12	外生菌根真菌对重金属吸附、有机污染物的降解作用	252
12.1	外生菌根真菌提高宿主对重金属耐受性	252
12.3	外生菌根真菌对有机污染物降解作用	254
	参考文献	257

1 外生菌根概述

1.1 菌根和外生菌根

菌根 (Mycorrhiza) 是土壤真菌与陆地植物根系形成的一种互惠共生体。1840—1851 年, Hartig 研究了真菌菌丝与植物细胞间的关系, 发现菌丝能够侵入皮层细胞间, 形成网状结构, 称之为哈蒂氏网。1885 年 Frank 进行了树木的根与真菌间关系研究, 并使用了菌根这一术语。结构如图 1-1。



(a) 松散的外部 (层) 菌丝和紧实的内部 (层) 菌丝在根表形成的菌套 (鞘) 以及在表皮细胞间形成的哈蒂氏网
(b) 紧实的内部菌套以及混杂的菌丝覆盖在根表。其中 C 为冠细胞, E 为表皮细胞, IM 为内部菌套, OM 为外部菌套

图 1-1 彩色豆马勃与桉树形成的菌根横切面

菌根的概念虽然提出较早, 但直到 20 世纪 20 年代, 瑞典科学家 Milin 才肯定了林木与外生菌根的共生特性。与此同时, 热带许多国家也积累了经验, 因为引进国外树种栽植常常失败, 主要是缺乏相应的真菌, 特别是外生菌根真菌。随着研究和应用的深入, 菌根的裨益已被越来越多的人所接受。

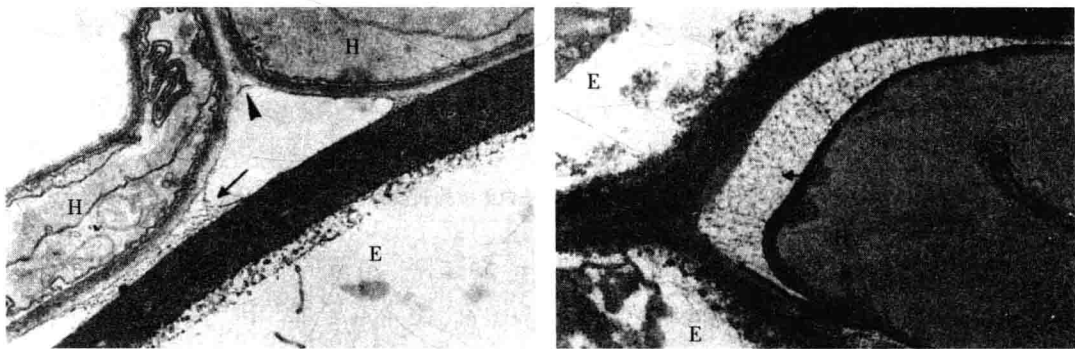
化石和分子证据表明, 早在 3.5 亿 ~ 4.5 亿年前, 菌根真菌就与古老的陆生植物形成了共生关系。目前, 全球约 97% 的陆地植物能形成各种不同类型的菌根。根据形态和解剖学特征, 可将菌根划分为 7 类: 外生菌根 (Ectomycorrhizae) 简称 ECM、丛枝菌根 (Vesicular arbuscular mycorrhizae)、内外生菌根 (Ectendomycorrhiza)、兰科菌根 (Orchid mycorrhiza)、浆果鹃类菌根 (Arbutoidmycorrhiza)、水晶兰类菌根 (Monotropoid mycorrhiza) 和欧石楠类菌根 (Ericoidmycorrhiza)。其中, ECM 的特点是真菌菌丝

在根尖表面形成菌套（Mantle）、在根皮层细胞间形成哈蒂氏网（Hartig net）以及在根外形成外延菌丝（Emanating hyphae）等。

1.1.1 外生菌根

ECM是由菌根真菌菌丝体包围宿主植物尚未木栓化的营养根形成，其菌丝体不穿透植物细胞内部，而仅在细胞间延伸生长。ECM在形态上有3个主要特征：①菌丝体在根表面紧密交织而形成菌套（Mantle）。②菌丝体在植物根部皮层细胞间隙形成网格状的哈蒂氏网（Hartig's net）。③菌根形态通常变短、变粗、变脆，无根冠、表皮及根毛，颜色多样，在菌套表面可见外延菌丝。

菌套是由真菌菌丝形成的包裹在宿主植物小根（Shoot-roots）外面的套状物，其结构和厚度随菌根真菌和宿主植物种类以及环境条件的不同而变化。菌套的位置介于植物的根表面与土壤之间，对ECM真菌而言，菌套可以说是营养以及碳源的供给库，在森林生态系统中，大量的氮和磷被储藏在菌套中；对于宿主植物而言，菌套增加了宿主营养根的吸收面积，由此提高了植物对土壤养分的利用率。可见，菌套在ECM真菌与宿主植物之间起到的是物质和能量交换桥梁的作用。哈蒂氏网是由Hartig第一个描述的结构，是由生长在根部外皮层细胞之间的菌丝形成的，是菌根真菌与宿主植物的接触面，是二者之间进行矿质元素和碳水化合物交换的场所。外延菌丝是ECM真菌的菌丝从菌套外延伸到土壤中而形成的一种结构，对宿主植物来说，外延菌丝才是真正意义上的菌根，因此Linderman认为，mycorrhizosphere比rhizosphere更好地反映了土壤环境和植物之间的接触面。图1-2是彩色豆马勃与桉树形成菌根情况。



(a) 菌丝（H）与桉树皮层细胞间（E）的早期接触 (b) 哈蒂氏网的形成

图1-2 彩色豆马勃与桉树形成菌根情况

1.1.2 外生菌根真菌与宿主

目前已报道的ECM真菌有8 000余种，主要隶属于3个亚门：担子菌亚门Basidiomycotina，子囊菌亚门Ascomycotina和接合菌亚门Zygomycotina。其中以担子菌所占的种类最多，主要为层菌纲Hymenomycetes和腹菌纲Gasteromycetes。其次为子囊菌纲Ascomy-

cetes, 主要包括散囊菌目 Eurotiales 和盘菌目 Pezizales; 接合菌最少, 仅一属——内囊霉属 *Endogane*。绝大多数外生菌根真菌宿主范围较广, 其中一些为裸子植物, 有的外生菌根真菌仅专一科, 极少数是属专一化的。

ECM 真菌有丰富的物种多样性。在一个蓝栎 *Quercus douglasii* 纯林中存在近百种 ECM 真菌, 与一棵欧洲赤松 *Pinus sylvestris* 树共生的 ECM 真菌就有 19 种之多, 甚至一个小小的根尖上都有可能被若干种 ECM 真菌侵染。革菌科 Thelephoraceae 和红菇科 Russulaceae 的真菌是大多数温带和热带森林生态系统的优势类群。此外, 在温带的落叶林中, 蜡壳菌属 *Sebacina* 和盘菌目 Pezizales 的真菌种类和数量也比较多。

以菌根真菌为主的调查, 除说明真菌的生境、经济价值, 与之共生的宿主关系是专一性还是广谱性之外, 同时还说明菌种的分布也同植被一样存在水平地理分布及垂直地带性分布, 与土壤息息相关, 菌根真菌在与之匹配的宿主林分中存在着前期真菌和后期真菌, 即以时间和空间为轴的动态变化演替规律。花晓梅对我国彩色豆马勃 *P.t* 的调查揭示了松树幼林、灌木杂草稀少、林地透光度大、酸性沙质土壤为其最佳生态条件, 同时获得 12 个生态型, 116 个菌株。分布于南亚热带的雷州半岛、广西、福建及中亚热带的云南、四川和暖温带的安徽等。现在研究还表明彩色豆马勃是先锋菌种。以菌类为主的调查还包含在各地的山区、自然保护区的大型真菌研究、山区资源开发及野生药用菌、野生食用菌的调查研究中、当地市场甚至非木材产品的对外贸易中。这些给各地菌根菌的本底调查提供了机会, 同时也摸清了菌根菌的价值、用途等社会需求。

外生菌根主要限于被子植物和裸子植物中的乔木, 约占世界植物的 10%, 主要包括: 松科 Pinaceae、杨柳科 Salicaceae、桦木科 Betulaceae、壳斗科 Fagaceae、豆科 Leguminosae、无患子科 Sapindaceae、槭树科 Aceraceae、椴树科 Tiliaceae 等。我国已基本摸清了能形成外生菌根的主要造林树种如桉树 *Eucalyptus camaulensis*、马尾松 *Pinus massoniana*、火炬松 *P. taeda*、湿地松 *P. elliotii*、加勒比松 *P. caribaed*、云南松 *P. yunnanensis* 等南方松及落叶松 *Larix kaempferi*、油松 *P. tabulaeformis*、樟子松 *P. sylvestris* var *mongolica*、毛白杨 *Populus tomentosa*、柞树 *Xylosma racemosum* 等主要经济树种、亚热带主要造林树种、东北地区树木及我国部分造林树种。

1.1.3 外生菌根真菌在菌根形成中的作用与研究进展

Marks 和 Foster 指出, 在自然条件下, 菌根真菌对树木的原生侵染发生在幼苗阶段。Bowen 和 Theodorou 认为种子萌发后首先突破种皮伸入土壤中, 根的分泌物诱导土壤中微生物繁殖体(孢子、菌丝等)萌发和生长, 并向分泌物浓度最高处发展。如果其中有菌根真菌, 它必须与其他微生物展开竞争, 只有竞争成功, 才能到达苗根, 在根表定殖, 逐渐覆盖根尖, 加厚形成菌丝套。然后菌根真菌侵入根组织开始根菌共生。在大多数情况下, 根顶端的生长使根轴伸长, 菌根侵染发生在根轴老熟组织之前的幼嫩组织, 并随生长逐渐衰老, 因此, 菌根是不断生长、发育、成熟和衰老的根轴和分枝, 不同类型的菌根具有其本身独特的生长、发育、成熟和衰老过程。Harley 指出, 外生菌根

真菌似乎侵入逐渐形成和成熟的根尖后的组织。花晓梅在纯培养条件下进行菌根合成证实了这种观点。一般认为,真菌菌丝干扰宿主聚合酶形成细胞壁,以便菌丝侵入或挤入。菌根真菌必须具有一些独特的性质,使它们自己(而不是根部的其他真菌)侵入,并与具有活性的根建立共生关系,根-菌间如此形成的实际结构是共生体间营养关系中最重要。

近年来,中国林科院创建了苗木截根菌根化的理论和技术(花晓梅1995),截根接种能促进菌根真菌在根表早期定殖,加速菌根形成,这种积极作用,既可确保优良菌根共生系统的形成,大幅度地提高接种效果;又可避免病原菌或其他有害微生物的侵入使幼苗健壮生长。截根接种加速菌根形成的主要原因是截根的伤口为菌根真菌提供了更有效的途径,扩大了侵染面,改变了侵染程序;真菌在截口根分泌物刺激下,高密定殖,直接侵入根内所有薄壁组织,甚至髓部细胞间隙和细胞内,形成了内外生菌根的典型结构;菌套、哈蒂氏网和胞内感染几乎同时发生,外生菌根真菌P.t与典型外生菌根树种形成内外生菌根尚属首次发现。截根有利于扩大两个共生体相互接触界面,加强相互间的作用与代谢活动,促进苗木的生长和发育。截根接种能促进侧根的形成是因为在截根和菌根真菌侵染双重作用下,抑制了主根生长。Marks等报道,侧根菌根感染的机理是主根已侵染部位菌丝的次生侵染。

近代的分子生物学研究表明,菌根形成时真菌在侵染过程中起积极作用,并得到遗传和分子生物学的支持。菌根共生体的共生过程具一系列属性,包括亲和宿主的识别、对根表的黏着、伸入到冠细胞间、对根部环境的适应、诱导宿主防御机制、进行形态的转变等。Cairney和Burke报道外生菌根真菌能够产生降解细胞壁的酶,这对菌根共生体的形成意义重大。

外生菌根形成时真菌中的细胞壁起重要作用,特别是细胞壁蛋白。Martin等进行了彩色豆马勃(P.t)外生菌根担子菌的细胞壁蛋白质在共生体中的识别作用及表达的研究。细胞壁作为细胞的最重要部分,介导真菌菌丝与环境、包括宿主植物间关系。通过观察细胞壁组成在侵染过程的变化及其共生界面的系列形成,说明了真菌细胞壁在共生体发育过程中的作用。而这些改变受到组成细胞壁的聚合物的合成与降解途径平衡的严格控制,真菌与宿主间的复杂关系表明共生体拥有大量机制适应各种宿主,由不同的基因控制表达。外生菌根形成主要包括真菌细胞壁在宿主表面的吸附,快速形成多菌丝结构组成菌套,并在哈蒂氏网菌丝与根细胞间形成界面,诱导宿主防御反应。细胞壁蛋白在菌根早期共生时是必要的。真菌在宿主表面的定殖通常需要专一的微生物配体和宿主受体。在菌丝顶部的受体能够识别专化的细胞外环境和其他细胞表面上的环境信号。在P.t外生菌根担子菌中,应用双层凝胶电泳、免疫细胞化学显微镜检技术、以及RNA区域(b 104)分析证明在共生体相互间细胞壁蛋白质的不同表达,例如疏水性、附着性(黏着性)和甘露蛋白,在其他真菌中,这些细胞壁蛋白在菌丝聚集胞内信号级联、细胞骨架变化等方面起重要作用。

真菌单糖可作为信号分子,对共生体植物基因的表达进行调控。Nehls在研究外生

菌根物质分配时,同时发现真菌单糖为信号分子。在外生菌根中,植物和真菌共生体之间许多益处是由于植物产生的碳水化合物与真菌提供的氨基酸和营养进行交换。葡萄糖是植物运输的主要的碳水化合物,被水解的单糖由真菌共生体和根皮层细胞所吸收,在共生体中植物降低对单糖的运输能力,可能是因为真菌产生氨基酸。而与土壤中生长的菌丝对照相比,毒蝇鹅膏菌 *Amanita muscaria* 单糖运输的表达提高4~6倍,导致在共生菌根中真菌单糖输入能力明显增加,碳水化合物的沉积可以解释为什么在外生菌根30%光合同化产物被转移到真菌部分。另一方面,植物补偿碳水化合物的损失是通过有效增加光合作用。真菌单糖对真菌生长和功能不仅是重要的,而且组成信号分子,对共生体植物基因的表达进行调控。在外生菌根 *A. muscaria* 中可区分出两种类型的糖控制基因进行调整,首先是基因的表达,苯丙氨酸解氨酶的表达受外部己糖的强烈抑制,由单糖控制的这种类型可能由己糖激酶作为传感器进行调控。其次是基因的诱导,当外部己糖浓度超过5 mM, *A. muscaria* 单糖的转移增加,这种传感器及单糖调控基因表达的机制还不清楚。

有些基因在共生体形成及维持方面起重大作用。Martin研究了来源于外生菌根真菌双色蜡蘑 *Laccaria bicolor* 共生关系的基因的克隆及特性。*L. bicolor*×*Pinus resinosa* 相互关系的离体体系采用DDRT-PCR识别和克隆共生关系调控基因,DDRT-PCR用于识别几种cDNAs进入相互关系的早期(6 h)时的不同表达。在*Pinus resinosa* 苗早期的相互关系中,这种cDNAs用于筛选*L. bicolor* cDNA文库增强对mRNAs的表达,cDNA的克隆特征,PF6.2,表现出在蛋白质的433处含有一个1551bp插入编码。PF6.2, cDNA的序列分析揭示了存在几个进化的重复蛋白序列。PF6.2,是由内部6个相对小的、外部7个间断的基因组成。尽管PF6.2氨基酸没有显示与任何先前的蛋白质完全一致,它含有的几个直接重复特征相似于其他蛋白包含的蛋白与蛋白相互间信号转导。Northern分析表明PF6.2 mRNA在真菌作用6 h后可检测到,并在建立的菌根中继续表达,表明其在共生体形成及维持方面起重大作用。

当然,菌根形成过程中也有许多植物基因在相互建立时进行调控。Tagu等探索了来自蓝桉 *Eucalyptus globules* 根部的共生体和植物生长调节剂谷胱甘肽转移酶GST的特征。研究表明,在树根与真菌菌丝间的外生菌根共生体伴随着大量的形态的和分子的修饰。在*E. globulus*-*Pisolithus microcarpus* (小果豆马勃)外生菌根间,观察到许多植物基因在相互建立时进行调控。在这个过程中,EgHypar表现出与植物生长调节剂谷胱甘肽转移酶GST高度同源。它的表达不仅在外生菌根中调控,而且通过外源生长素应用和色氨酸三甲基内盐调控,在外生菌根形成时,通过小果豆马勃排泄色氨酸、甘氨酸三甲基内盐(甜菜碱)。在研究中,EgHyPar多肽重组体在大肠杆菌中进行生产,纯多肽表明在离体时谷胱甘肽转移酶GST具活性,其不仅受3-吡啶-乙酸的抑制,而且受生长素的合成或色氨酸三甲基内盐调控,培育的EgHyPar多肽重组体抗体,经Western分析表明,EgHyPar多肽的聚集在外生菌根中提高了。免疫定位研究证明完善的EgHyPar多肽胞定位接近于原生质细胞壁及根部侵染和未侵染两种细胞壁。

1.1.4 外生菌根真菌学

人类从几千年前就已开始认识和利用真菌,但是作为一门独立的学科,真菌学只有250 a的历史。菌根的发现和研究至今有128 a的历史。随着科学技术的不断发展,特别是近30 a来菌根研究可谓突飞猛进,建立在菌生物学和植物学等学科基础上的这一交叉研究领域,已形成一门独立的菌根学。而外生菌根真菌是与林木形成外生菌根的一类真菌,其应用技术与研究方法已独具特色,是菌生物学的一个分支学科。外生菌根真菌应用研究法主要研究内容包括外生菌根的形态与解剖、外生菌根真菌的分类、外生菌根真菌的生物多样性、外生菌根真菌的分离与培养、外生菌根真菌的生物学特性、外生菌根真菌的抑菌作用测定、外生菌根真菌对农药的抗性、菌根际微生物、外生菌根真菌应用技术等方面的内容。外生菌根真菌学与共生学、菌生物学、树木学、树木生理学、生态学、土壤学、植物病理学、微生物学、医学、药理学等密不可分。

1.2 外生菌根应用研究的意义

1.2.1 完善生物学理论和方法

外生菌根应用研究与发展,可以丰富生物学的内容,尤其是所研究菌根真菌分离培养、生理代谢、生物学、共生机制、分类、生物多样性、抑菌机理、抗逆性、人工促进栽培等方面的进展,有助于丰富该方面的理论和知识。外生菌根真菌学所建立起来的实验体系、研究方法和技术不仅能促进本学科的发展,而且可以应用到相关学科。因此外生菌根真菌学在方法上也能增加整个生物学领域的研究技术,从而促进生物学的发展。

1.2.2 促进林木生长

一旦外生菌根真菌与树木根形成外生菌根后,特殊结构和根—菌互作,使外生菌根具有诸多功能。

1.2.2.1 增强营养吸收

外生菌根真菌可以菌套、哈蒂氏网、外延菌丝等连接相同或不同的树种,扩大根系的吸收面积和吸收范围,起着吸收、运输和贮存营养物质的作用。增强宿主树木对营养元素的吸收和利用,接种菌根菌的苗木P, N, K, Cl, Mg, Na等含量比对照的高。其中一切影响新陈代谢的因子,如呼吸基质、氧的供给、温度、养分、代谢物质等皆影响营养吸收。

(1) 增强对磷的吸收能力:①提高根系吸收能力。未侵染的根寿命才几天,而菌根侵染的根可保持几个月甚至一年的吸收力。②菌丝代替根毛,扩大土壤有效利用空间,保持主动吸收。③菌丝扩大吸收根面积,作为土壤到根系有效磷的载体。④增加磷的亲合力,降低吸收临界浓度。⑤产生磷酸酶,增加矿化速率,促进磷的吸收。⑥改善根际

微环境,有利植物对磷的吸收。⑦外生菌根真菌可分泌草酸、乳酸、顺丁烯二酸和反丁烯二酸,这些有机酸的分泌与难溶性磷的活化有密切关系。

(2) 影响氮的吸收与代谢:铵在土壤中的流动速度是磷的10倍,需要量和吸收量也是磷的10倍。外生菌根一般不利用硝态氮,大多数有利用铵态氮和简单氮化物的能力。花晓梅证明外生菌根彩色豆马勃既能利用铵态氮和有机氮,还能利用硝态氮,但不能固定气态氮,却能增加固氮植物的根瘤。菌根促进固氮可能与菌根能够吸收磷有关,因为磷是微生物固氮和宿主生长必需的元素。所以外生菌根真菌被誉为生物肥料。

1.2.2.2 增强抗病性

(1) 菌根形成的特殊结构,如菌套、哈蒂氏网等能机械地阻挡病原菌对宿主的侵染。

(2) 菌根菌能够在病原菌内重寄生,使病原菌瓦解。

(3) 菌根菌能够产生酶、代谢产物和挥发性物质,抑制病原真菌、细菌、病毒。

(4) 在菌根际有保护作用的根际微生物群落。

(5) 外生菌根共生体双方能够产生化学分泌物。

(6) 激活抗性机制。

所以外生菌根真菌是土传病害的克星,是筛选微生物源杀菌剂的主要资源库。

1.2.2.3 增强抗旱性

菌根化苗木的特定结构使根的吸收面积增大,降低了植物与土壤之间的流体阻力,促进根系对水分的吸收,油松菌根化苗木针叶水势测定表明,当土壤水势降至-1.42 MPa以下时,菌根处理苗木的针叶水势明显高于对照苗木。菌根的形成,能够减缓水分胁迫在苗木体内的发展,增强其抗旱性。

吕全与雷增普报道,板栗苗木接种菌根真菌后,增加多种营养元素的吸收,从而增大叶肉质化程度,减小比叶面积,提高束缚水含量、增强保水率;叶绿素含量增高,净光合速率增大,叶片气孔导度减小、阻力增大,从而减少蒸腾作用最终提高苗木水分利用率;菌根菌处理降低了水分饱和和亏损,进而使植物感受不到或只是轻微感受到干旱胁迫,体内游离脯氨酸含量无显著增加,也说明菌根菌处理的苗木减轻干旱胁迫。

1.2.2.4 具有富集作用

(1) 菌根菌套(Mantle)部位含有高量铝堆积,铝被菌根菌丝有效阻碍,摒弃于根细胞之外,Al和Ni在哈蒂氏网、菌根菌套及皮层细胞壁中含量高。低pH和 Al^{3+} 能诱导菌根菌体内超氧化物歧化酶(SOD)的产生。但Denny等指出菌根植物桦木(*Betula* spp.)表面菌丝是积累重金属的主要地点而不是哈蒂氏网或菌根。

(2) 菌丝在Cu胁迫下依然呈S曲线生长。

(3) Cd在哈蒂氏网,Zn在哈蒂氏网、皮层细胞壁、菌根菌套中分布高。

1.2.2.5 改善土壤结构

菌根及其真菌是土壤微生态的重要组成部分,外生菌根真菌可通过向细胞外分泌有机酸将难溶的有机磷转为可溶性的磷而被宿主吸收;能产生还原酶直接吸收 NH_4^+ 态氮和

NO₃ 态氮, 且有机酸包裹土壤颗粒形成胶状有机肥, 菌丝死亡后为土壤提供有机质, 菌丝的生长活动增加土壤通透性, 改善土壤结构。梁宇等提出, 菌根真菌在酶的作用下参与枯落物的分解, 提高了土壤肥力。外生菌根真菌 *Paxillus involutus*, *Suillus bovinus* 能够吸收 3-氯苯甲酸, 外生菌根真菌 *Paxillus luteus*, *Suillus grevillei* 还增强宿主对五氯酚的耐性。

1.2.2.6 促进宿主生长

赵志鹏、郭秀珍研究了外生菌根真菌在纯培养中生理活性物质的代谢, 许多外生菌根能产生植物激素和生长调节物质, 通过合成植物激素调节宿主—真菌双方, 乳牛肝、牛肝菌能产生玉米素和乙烯, 而乙烯的活动在许多方面与吲哚乙酸相似, 生长素刺激苗根的分叉, 使短根数量增加。Pt-RG33 产生细胞分裂素——核酸玉米素、吲哚乙酸 (IAA) 和赤霉素, 从而促进宿主生长。

1.2.3 提高环境安全性

大多数外生菌根真菌能够减轻由重金属、有机污染物、放射性元素等对土壤环境造成的污染及其对植物造成的不利影响。菌根化的植物能在重金属污染的土壤中生存下来, 而且还能增加对土壤中重金属元素的吸收。外生菌根菌能富集重金属离子, 使宿主在重金属污染的立地条件下正常生存, 栽植于煤矿弃土地上的琉球松 *Pinus luchuensis* 人工接种 Pt 在土壤高铝含量下, 地下部细根、地上老枝条、老针叶及落叶中铝浓度含量高, 电镜扫描及元素光谱分析证明: 菌根菌套部位含有高量铝堆积, 而根部皮层与中柱细胞则测不到铝含量, 显示铝被菌根菌丝有效阻碍, 摒弃于根细胞之外, 此为琉球松菌根在煤矿弃土高铝含量中的生理机制。

接种外生菌根真菌可以显著降低根际重金属 (Cu 和 Cd) 的生物有效性。菌根真菌具有“固持作用”, 可以通过将重金属元素吸附、固定并积聚在菌根菌丝等部位限制污染重金属元素向植物运输, 也可以通过菌套或哈蒂氏网吸收过滤有毒物质, 并通过改善土壤理化性质以及降低土壤中可溶态重金属含量等方式保护植物免受毒害, 使菌根植物更易于在污染地带定植, 即可以通过植物钝化方式增加污染地被覆盖, 对污染土壤进行修复。

人们越来越关注外生菌根真菌对环境有机污染物的降解。外生菌根真菌能够降解许多芳烃类化合物, 如多环芳烃、多氯联苯、三硝基甲苯和有机氯农药等。外生菌根真菌的这种降解有机污染物的能力和作用, 与其木质素降解酶系有关。外生菌根真菌与植物共生形成真菌后, 利用植物提供的碳水化合物作为基本碳源, 提高胞外木质素氧化酶活性, 为降解有机污染物创造条件。并且这种共生关系提高了菌根真菌的适应能力。Günther 等以 ABTS 为定量测试的底物, 研究了两种外生菌根真菌点柄粘盖牛肝菌 *Suillus granulatus* 和卷边桩菇 *Paxillus involutus* 产生漆酶和过氧化物酶的能力。结果显示, *S. granulatus* 能产生胞内的过氧化物酶以及胞内和胞外的 Lac, 而 *P. involutus* 能产生胞内 Lac。研究还发现, 如果将这两种外生菌根真菌与宿主植物欧洲赤松 *Pinus sylvestris* 接

种, 接种后形成的菌根的过氧化物酶活性是没有接种的宿主植物根的2倍。即在田间试验中具有很大的优势。Meharg等研究了外生菌根真菌卷边桩菇和点柄粘盖牛肝菌在离体条件下和与 *Pinus sylvestris* 接种条件下对2, 4-二氯苯酚的降解, 结果表明, 该两种真菌在接种条件下对2, 4-二氯苯酚的降解率要高于离体培养条件下的降解率。可见外生菌根真菌参与有机污染物的降解, 在植物降解有机污染物中具有潜在应用价值。外生菌根真菌很可能成为吸附重金属与降解有机污染物的有效微生物, 进而提高环境安全性。

1.2.4 保护生物多样性

生物多样性是指在一定时间和一定地区所有生物(动物、植物、微生物)物种及其遗传变异和生态系统的复杂性总称。它包括基因多样性、物种多样性和生态系统多样性3个层次。生物多样性是生物及其与环境形成的生态复合体以及与此相关的各种生态过程的总和。生态多样性是指生物在生态、生境上的多样化, 是指生物与环境形成的生态复合体以及与此相关的各种生态过程的总和, 是生物多样性的重要组成部分之一。关于动物、植物生态多样性的研究易引起人们的重视, 已经研究得比较广泛而深入, 相反对大型真菌的生态多样性却易被人忽视。实际上任何物种都只能生长在与其他物种及其周围环境所构成的生态系统中, 这就构成每种生物的生态位, 组成了地球上错综复杂的生态多样性。外生菌根真菌是一个具有重要经济和生态学意义的生物类群, 对于保护和科学地利用地球生物的多样性具有重要意义。

由于外生菌根真菌在生态系统中的重要地位和功能, 通过它们在地下的菌丝网络可以将多种植物甚至整个植物变成一个有机整体, 实现养分、水分、能源、信息共享和最高效的利用, 从而促成植被繁茂, 保护了植物的多样性。而依赖于森林的动物从中受益, 通过植物网增加动物多样性。其他一些与林木关系密切的微生物的生长、发育、分布、多样性和功能也会受到不同程度的影响。

1.2.5 维护生态平衡

菌根真菌在长期的进化过程中所形成的相互协调的共生体, 具有扩大植物根系的吸收面积、增强植物对矿质元素的吸收能力、促进植物生长、增强植物抗干旱和抗病性的能力等, 此外仍有许多功能鲜为人知。土壤中ECM真菌菌丝生物量占土壤微生物总量的30%, 占真菌生物量的80%。ECM真菌也是重要的碳汇, 储存了22%的净光合净产物。ECM真菌作为自然生态系统的重要组分, 由于是两种或两种以上生物构成的一个有机整体, 菌根及菌根真菌具有十分丰富的物种、生态系统和功能多样性, 特别是通过形成庞大的菌根菌丝网络, 几乎可以和所有植物中的各种植物联结起来, 进行养分交换、能量流动和信息传递, 从而最高效地充分利用有限的时间、空间和资源, 保证植物根深叶茂。并且通过植物与地上食物网相连, 间接为动物提供了充足的食物资源和栖息空间, 动物的发展壮大传播外生菌根真菌, 从而使整个生态系统进入一个完整有序的良好性循环。可见菌根在陆地生态系统中直接、间接和与其他生物协同发挥作用, 在促进全