

张小慧, 谢荣樟, 张锦燕, 等. 马尾松和米槠林下外生菌根真菌对宿主的选择性 [J]. 福建农业学报, 2024, 39 (1): 93-104.

ZHANG X H, XIE R Z, ZHANG J Y, et al. Host Selection of Ectomycorrhizal Fungi at *Pinus massoniana* and *Castanopsis carlesii* Forests [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2024, 39 (1): 93-104.

马尾松和米槠林下外生菌根真菌对宿主的选择性

张小慧¹, 谢荣樟², 张锦燕¹, 满家银¹, 孙代珍³, 邓宗杰³, 魏丽花³, 练春兰^{4*}

(1. 福建农林大学林学院/森林共生生物学国际联合实验室, 福建 福州 350002; 2. 三明市三元区林业局, 福建 三明 365000; 3. 福建省清流国有林场, 福建 三明 365000; 4. 东京大学亚洲自然环境科学中心, 东京 文京 188-0002)

摘要: 【目的】探究森林土壤中外生菌根真菌 (Ectomycorrhizal fungi, ECMF) 对宿主的选择性。【方法】采用不同的土壤菌源 (马尾松土壤 *Pinus massoniana* soil, PmS 和米槠土壤 *Castanopsis carlesii* soil, CcS), 分别对马尾松 (*Pinus massoniana*, Pm) 和鳞苞锥 (*Castanopsis uraiiana*, Cu) 进行接种试验 (Pm-PmS、Pm-CcS、Cu-PmS、Cu-CcS)。培育 6 个月后, 采用 ITS 进行菌根鉴定, 检测并计算不同土壤菌源下马尾松和鳞苞锥根中 ECM 出现的频率、侵染率、相对丰度、相对频率、丰富度和多样性, 并测定苗木生长指标以及土壤理化性质。【结果】米槠土壤 pH 值、全磷含量、全碳含量、有效磷含量显著高于马尾松土壤, 且接种苗木后幼苗的地上干重和根长均显著高于马尾松土壤。两种土壤中共检测到 19 个 OTUs 的 ECMF, 分别属于 7 科和 10 属, *Cenococcium geophilum*、*Rhizopogon boninensis* 和 *Tomentella* sp.2 为两种土壤共有。马尾松林下土壤鉴定到的 13 种 ECMF 中, 能侵染马尾松的有 8 种, 能侵染鳞苞锥的有 6 种。米槠林下土壤鉴定到的 9 种 ECMF 中, 能侵染马尾松的有 4 种, 能侵染鳞苞锥的有 7 种。*C. geophilum* 和 *Sebacina* sp.2 均能与马尾松和鳞苞锥建立共生关系; 而 *Hyaloscyphaceae* sp.、*Lactarius inconspicuus*、*Rh. boninensis*、*Rh. flavidus*、*Tomentella* sp.1、*Tomentella* sp.3 和 *Tomentellopsis submollis* 只侵染马尾松; *Athelia* sp.、*Amanita* sp.、*L. atrofuscus*、*Russula minor*、*Russula* sp.、*Sebacina* sp.1、*Thelephora* sp.1、*Thelephora* sp.2 和 *Tomentella* sp.4 只侵染鳞苞锥。马尾松土壤的 ECMF 丰富度指数 (IV)、Shannon 多样性指数 (H')、Simpson 优势度指数 (D) 高于米槠土壤; 但马尾松土壤接种不同宿主植物后的 Sorensen 相似性指数 (0.14) 低于米槠土壤 (0.36)。部分 ECMF 的侵染率与寄主的生理生态指标密切相关。【结论】ECM 是经过长期与树种共同进化而建立的共生关系, 因此马尾松土壤中的 ECMF 更倾向于侵染马尾松, 而米槠土壤的 ECMF 更倾向于侵染同为壳斗科的鳞苞锥; 马尾松林下土壤的 ECMF 相对于米槠土壤, 对寄主植物选择性的更强。虽然土壤理化性质在一定程度上影响了侵染率, 但是 ECMF 的定殖主要受宿主植物的影响。

关键词: 马尾松; 鳞苞锥; 外生菌根真菌; 宿主选择; 共进化

中图分类号: S714

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2024) 01-0093-12

Host Selection of Ectomycorrhizal Fungi at *Pinus massoniana* and *Castanopsis carlesii* Forests

ZHANG Xiaohui¹, XIE Rongzhang², ZHANG Jinyan¹, MAN Jiayin¹, SUN Daizhen³,
DENG Zongjie³, WEI Lihua³, LIAN Chunlan^{4*}

(1. International Joint Laboratory of Forest Symbiosis Biology/College of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China; 2. Sanming Sanyuan District Forestry Bureau, Sanming, Fujian 365000, China; 3. Qingliu State-owned Forest Farm of Fujian Province, Sanming, Fujian 365000, China; 4. Asian Natural Environmental Science Center, University of Tokyo, Tokyo 188-0002, Japan)

Abstract: 【Objective】Host selection of ectomycorrhizal fungi (ECMF) in forest soil was studied. 【Method】In the soils at forests of *Pinus massoniana* (Pm) and *Castanopsis carlesii* (Cc), various fungi were inoculated into Pm or *Castanopsis*

收稿日期: 2023-09-07 修回日期: 2023-10-17

作者简介: 张小慧 (1999—), 女, 硕士研究生, 主要从事森林保护工程研究, E-mail: m15059255681@163.com

* 通信作者: 练春兰 (1965—), 女, 博士, 教授, 主要从事森林保护工程研究, E-mail: chunlan@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (KJD21006A)

uraiana (Cu) and designated as treatments of Pm-PmS, Pm-CcS, Cu-PmS, and Cu-CcS. After cultivating the inoculated seedlings for 6 months, mycorrhizal identification on the fungi was performed by ITS. The frequency, infection rate, relative abundance, relative frequency, richness, and diversity of ECMF in the roots of Pm and Cu plants were monitored or calculated. Seedling growth indexes and soil physiochemical properties were determined. 【Result】 The Cc forest soil (CcS) showed significantly higher pH and contents of total phosphorus, total carbon, and available phosphorus as well as the seedling shoot dry weight and root length than the Pm counterpart (PmS). The 19 OTUs of ECMF detected in these soil samples belonged to 7 families and 10 genera. Of which, *Cenococum geophilum*, *Rhizopogon boninensis*, and *Tomentella* sp. 2 were commonly found on the two soils. Out of the 13 ECMF identified in PmS, 8 infected Pm and 6, Cu; while among the 9 ECMF identified in CcS, 4 infected Pm and 7, Cu. Both *C. geophilum* and *Sebacina* sp. 2 were symbiotic with Pm and Cu. *Hyaloscyphaceae* sp., *Lactarius inconspicuus*, *Rh. boninensis*, *Rh. flavidus*, *Tomentella* sp. 1, *Tomentella* sp. 3 and *Tomentellopsis submolliis* infected Pm, whereas *Athelia* sp., *Amanita* sp., *L. atrofuscus*, *Russula minor*, *Russula* sp., *Sebacina* sp.1, *Thelephora* sp. 1, *Thelephora* sp. 2 and *Tomentella* sp. 4 infected only Cu. The ECMF richness index (IV), Shannon index (*H'*) and Simpson index (*D*) of PmS were higher than those of CcS. However, the Sorensen index on the PmS planted with host plants other than Pm was 0.14, which was lower than 0.36 on the CcS planted not with Cc. The infection rates of some ECMF were closely related to the physiological and ecological properties of the host. 【Conclusion】 The symbiosis between ECMF and trees has evolved in a long process. The ECMF in the soil at a Pm forest tended to infect Pm specifically, and so did those at a Cc forest to Cc, Cu or Fagaceae plants. However, the ECMF in PmS were more selective on their host plants than those in CcS. Even though soil physiochemical properties also affected the ECMF infection, the species of host plant largely determined the fungal colonization on the land.

Key words: *Pinus massoniana*; *Castanopsis uraiana*; ectomycorrhizal fungi; host selection; symbiotic evolutionary process

0 引言

【研究意义】外生菌根 (Ectomycorrhiza, ECM) 是指外生菌根真菌 (ectomycorrhizal fungi, ECMF) 菌丝伸入植物尚未木栓化的根部皮层细胞间, 形成具有哈蒂氏网 (Hartig net)、菌套 (Fungal mantle) 和菌丝 (Hypha) 等特殊结构的共生体。ECM 通过扩大植物根系吸收面积和活化土壤中的无机营养元素, 从而促进宿主植物对土壤养分的吸收。此外, ECM 还可以提高宿主植物对生物和非生物胁迫的抗性^[1-3]。ECMF 能与松科 (Pinaceae)、壳斗科 (Fagaceae)、杨柳科 (Salicaceae)、桦树科 (Betulaceae) 等多种科属植物形成共生关系, 协助植物在各种逆境中生长, 在生态环境中充当着重要的角色^[4-5]。另外不同菌根会同时与周围树木产生联系, 构建巨大的菌丝网络 (菌丝桥), 这种网络关系在调控植物间养分的再分配、稳定林分结构以及调节森林生态平衡的稳定性中发挥重要作用^[6]。【前人研究进展】ECMF 最早在 5 200 万年前的化石中就被发现, 其起源很可能与松科植物的出现有关, 在植物与菌根真菌的共进化过程中, 少部分失去了丛枝菌根状态的裸子植物与 ECMF 发生共生关系^[7]。系统基因重建表明, 担子菌门的 ECMF 是从腐生菌进化而来的, 主要是白腐菌和褐腐菌, 它们具有使木质素和纤维素降解的基因^[8-9]。但不同的 ECMF 由于其历史进化和特定的生态功能不同, 因此其所拥有

的腐殖质降解相关基因也有所不同^[10]。无论在进化中如何改变, ECMF 在定殖过程中很大程度上受到寄主植物自身养分需求和生理状态的调节^[7]。ECMF 与宿主植物建立共生关系时, 宿主植物及其周围的养分分布、土壤中物质及信息的传递、根际微生物都影响着菌根的形成^[11-13]。因此, 菌根的形成是环境、宿主和真菌共同作用的结果。其中, ECMF 对宿主植物的选择是菌根建立的重要因素^[14-15]。ECMF 在进化的过程中具有高度的物种多样性, 有些 ECMF 可以与多种植物形成菌根, 这些 ECMF 称为“广谱型菌根真菌”, 如美味牛肝菌 (*Boletus edulis*)、暗灰鹅膏菌 (*Amanita vaginata*) 能与冷杉、云杉、落叶松等树木形成菌根^[16]。而另外一些“专化型菌根真菌”只能与个别少数植物形成外生菌根, 如小牛肝菌 (*Boletinus cavipes*) 只能与落叶松形成外生菌根^[4]。综上所述, 外生菌根的定殖很大程度上受宿主植物的调节。且随着 ECMF 的重要性被许多学者发现, ECMF 在进化过程中的变化趋势逐渐成为国内外学者的研究热点。Palmer 等发现红菇属 (*Russula*)、蜡耳壳属 (*Sebacina*)、棉隔菌属 (*Tomentella*) 是美洲栗 (*Castanea dentata*) 的优势菌属^[17]。康文斯研究发现红菇属、乳菇属 (*Lactarius*) 和锁瑚菌属 (*Clavulina*) 是川东地区马尾松林分中的优势属^[18]。【本研究切入点】但以往的研究大多是聚焦于特定的宿主关联下 ECMF 群落的研究, 忽略了 ECMF 在生态过程中对不同宿主植物的选择问题。【拟解决的关键问

题】以中国亚热带地区具有代表性的树种马尾松和米槠林下土壤为研究对象,通过采集不同林分下的土壤作为 ECMF 菌源,对马尾松和鳞苞锥幼苗进行种植试验,采用 ITS 进行菌根鉴定,并测定苗木生长指标以及土壤理化性质,以探讨两种林分中现存的 ECMF 对不同宿主是否具有选择,从而进一步探究 ECMF 在进化过程中对宿主植物的选择性问题的平衡提供理论基础。

1 材料与方 法

1.1 试验材料及处理

1.1.1 无菌苗培育

马尾松无菌苗的培育:选取优良品种的马尾松种子(由福建省五一国有林场提供),用去离子水清洗后,用 1% 的 NaClO 浸泡消毒 10 min,再用无菌去离子水冲洗 3 次后浸泡 24 h。将种子置于装有蛭石(120 ℃,灭菌 3 h)的长方形育苗盘内催芽。待马尾松长至针叶展开种壳掉落,再移植至装有赤玉土:山地土=2:1(灭菌 121 ℃,3 h)的花盆内培养,2 个月用于接种试验。

鳞苞锥无菌苗培育:由于米槠育苗周期长,故本试验选用同为壳斗科(Fagaceae)的鳞苞锥来代替米槠。选取品质优良的种子(由福建省清流国有林场提供),用去离子水冲洗后,用 1% 的 NaClO 浸泡消毒 20 min,再使用无菌去离子水冲洗 3 次后浸泡 24 h,将种子置于装有蛭石(120 ℃,灭菌 3 h)的长方形育苗盘内催芽。待鳞苞锥幼苗长至展开 2 片叶时,并移至装有赤玉土:山地土=2:1(灭菌 121 ℃,3 h)的花盆内培养,6 个月用于接种试验。

1.1.2 土壤的采集及处理

于 2021 年 6 月采集土壤菌源样品,采集地点为福建省三明市陈大镇砂蕉村的台江国有林场红菇实践基地。林分林龄皆为成熟林,米槠林(26°19'3"N, 117°32'57"E)植被类型以米槠为主,以及少量的杉木。马尾松林(26°20'6"N, 117°37'1"E)植被类型以马尾松为主,以及少量水杉。

采样方法:采集土壤菌源所选的树木至少间隔 5 m 以上。选取 30 棵树木,在距离选定的树干 1 m 处收集 0~5 cm 深度的土壤,每棵树木收集 5 个样点,共 150 个土样。将土壤置于低温条件下快速带回试验室,捡出土壤样品中的石子和残枝,将土壤团聚体碾碎至 2~3 mm,根系剪至 1 cm 的小段,将土壤样品进行充分混匀,并以此作为接种菌源。将不同树种土壤与 121 ℃ 灭菌 3 h 的赤玉土 1:1 混合作为接

种试验基质,立即进行后期的盆栽试验。

1.2 试验方法

1.2.1 盆栽试验

试验共 4 个处理:马尾松土壤分别种植马尾松(Pm-PmS)和鳞苞锥(Cu-PmS),米槠土壤分别种植马尾松(Pm-CcS)和鳞苞锥(Cu-CcS),马尾松各种植 10 盆(每盆 3 株),鳞苞锥各种植 15 盆(每盆 2 株),共计 50 盆。试验在温室中进行(温度:20~25 ℃,相对湿度:60%~70%)。培养期间按照苗木自身要求正常浇水,接种 6 个月后收获,观测菌根侵染情况并计算各 ECMF 的出现频率、侵染率、相对丰度、相对多度、丰富度和多样性,以及测定苗木生长指标和土壤理化性质。

1.2.2 菌根侵染率

将马尾松和鳞苞锥幼苗的根从土壤中小心取出,用去离子水冲洗 3~4 次,冲洗干净后将其剪成 1 cm 左右的小根段,平铺在画有 1 cm×1 cm 方格的培养皿中,每隔一格取一个根段,每个重复根段总数至少超过 50 个。然后在体视显微镜下观察菌根,采用十字划线交叉法计算马尾松和鳞苞锥幼苗根系的侵染率^[19]。

$$\text{侵染率}/\% = (\text{形成 ECM 的根尖数} / \text{观察的总根尖数}) \times 100$$

$$\text{检测频率}/\% = (\text{ECMF 出现在苗木的株树} / \text{总苗木的株数}) \times 100$$

本研究中以 α 多样性指数表示马尾松和米槠土壤接种不同宿主植物的外生菌根真菌的多样性^[20,21]。对其 ECMF 的相对丰度(R_a)、ECMF 相对频率(R_f)、丰富度指数(IV)、Shannon 多样性指数(H')、Simpson 优势度指数(D)、Sorensen 相似性指数(C_s)分别计算。

$$R_a/\% = (n_i/N_i) \times 100$$

$$R_f/\% = (f_i/F_i) \times 100$$

$$IV/\% = (R_a + R_f) / 2$$

$$H' = -\sum_{i=1}^s P_i \ln P_i$$

$$D = 1 - \sum_{i=1}^s P_i^2$$

$$C_s = 2j/(a+b)$$

式中, n_i 为外生菌根真菌*i*在样品中的根尖数, N_i 为所有外生菌根真菌在样品中的根尖数之和; f_i 为某种外生菌根真菌在样品中出现的次数, F_i 为所有外生菌根真菌在样品中出现的次数之和; P_i 为菌根

真菌 i 的相对重要值; S 为每一个处理里检测出来的全部菌根真菌种类总数; j 为处理 1 和处理 2 共有的物种数, a 为处理 1 物种数, b 为处理 2 物种数。

1.2.3 菌根样品 ITS 鉴定

将查看完侵染情况的苗木根系清洗过后置于体视显微镜下观察菌根, 根据菌根的不同形态进行分类, 每种菌根挑取 3 个放入 2 mL 离心管置于 -20°C 冰箱保存, 用于后续提取 DNA。

菌根样品 DNA 采用 CTAB 法提取^[22], PCR 扩增使用 (ITS1F: 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3'; ITS4R: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 引物进行 ITS 区域扩增。PCR 反应体系 (25 μL): DNA 模板 1 μL ; 上下游引物各 1 μL ; $2\times\text{Taq Master Mix}$ 12.5 μL ; ddH_2O 9.5 μL ; PCR 反应程序: 94°C 预变性 3 min; 30 个循环 (94°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min); 72°C 再延伸 5 min; 结束后样品 4°C 保存备用。取 2 μL 的 PCR 产物进行 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测。将具有清晰明亮条带的样品, 送至擎科生物科技有限公司测序, 得到的结果用 SnapGene Viewer 和 MEGA5 软件检测, 然后测序结果与 NCBI 数据库进行 BLAST 比对, 相似度 $\geq 90\%$ 为属水平, 相似度 $\geq 97\%$ 为种水平。

1.2.4 苗木生长指标测定

将苗木地上部和地下部根系分开, 地上部用去离子水洗净后, 用吸水纸吸干, 先称取植物鲜重, 然后于 105°C 杀青 30 min 后在 80°C 烘箱烘至恒重, 称量干重。地下部根系洗净后, 特征用根系扫描仪 (Epson Expression 1640X1scanner, Epson, Quebec, Canada) 测量, 然后用 Win RHIZO 软件分析根长、根表面积、根体积、根尖数量。

1.2.5 土壤 pH 和养分含量的测定

收集盆栽土壤, 将收集的土壤置于空旷阴凉处风干, 研磨后测定 pH、有效磷 (AP) 和有效钾 (AK) 用 20 目筛孔过滤, 测定全碳 (TC)、全氮 (TN)、全磷 (TP) 和全钾 (TK) 使用 100 目筛孔过滤。土壤 pH 采用 $V(\text{水}, \text{mL}):m(\text{土}, \text{g})=2.5:1$ 水土比法测定^[23]。参考胡慧蓉^[24]的方法, 测定以下土壤理化性质: 有效磷 (AP) 用盐酸硫酸浸提法测定, 有效钾 (AK) 用 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸铵浸提-火焰光度法测定, 全碳 (TC) 和全氮 (TN) 采用德国 VARIO MAX 碳氮元素分析仪测定, 全磷 (TP)、全钾 (TK) 使用电热板煮沸后, 用电感耦合等离子体发射光谱仪 (ICP-AES, PerkinElmer NexION300X) 测定。

1.3 数据处理与分析

应用 Excel 2018 软件进行数据整理, SPSS 23.0

进行显著性差异分析 (独立样本 t 检验), Pearson 相关系数分析 ECMF 侵染率与土壤理化性质和苗木生长量的关系。

2 结果与分析

2.1 不同森林土壤接种马尾松和鳞苞锥的土壤理化性质及苗木的生长

种植马尾松和鳞苞锥苗木前后, 米楮土壤中的 pH 值、全磷 (TP)、有效磷 (AP) 和全碳 (TC) 均显著高于马尾松土壤 ($P<0.05$)。而马尾松和鳞苞锥苗木移植前后对米楮和马尾松土壤的 pH 和养分含量没有影响 (表 1)。马尾松和鳞苞锥幼苗移植于米楮土壤的地上干重和根长均显著高于马尾松土壤 ($P<0.05$; 表 2、图 1)。

2.2 马尾松和米楮林下土壤侵染不同宿主的 ECMF 分析

通过对采集的菌根的 ITS 区段进行测序, 通过与 NCBI 数据库进行对比 (97% 阈值), 总共有 19 个 OTUs, 分别属于 7 科和 10 属 (表 3), 图 2 为 4 种主要的外生菌根形态结构。

不同外生菌根真菌在不同处理水平上的相对丰度如表 3 所示, 马尾松和米楮林下土壤接种不同宿主植物后的 ECMF 存在明显差异; 马尾松林下土壤鉴定到的 ECMF 有 13 种; 能侵染马尾松的 ECMF 有 *Cenococcum geophilum*、*Hyaloscyphaeae* sp.、*Rhizopogon boninensis*、*Rh. flavidus*、*Tomentella* sp.1、*Tomentella* sp.2、*Tomentella* sp.3 和 *Tomentellopsis submollis*; 其中, 优势种为 *Tomentella* sp.1 (37.89%)、*Rh. boninensis* (31.78%) 和 *Tomentella* sp.3 (16.00%), 相对丰度占总相对丰度 85.67%; 能侵染鳞苞锥的 ECMF 为 *Athelia* sp.、*C. geophilum*、*Russula* sp.、*Sebacina* sp.1、*Thelephora* sp.1 和 *Tomentella* sp.4; 其中, 优势种为 *Thelephora* sp.1 (41.88%)、*Tomentella* sp.4 (28.40%) 和 *C. geophilum* (12.50%), 相对丰度占总相对丰度 82.78%。米楮林下土壤鉴定到的 ECMF 有 9 种, 能侵染马尾松的 ECMF 为 *C. geophilum*、*Lactarius inconspicuus*、*Rh. boninensis* 和 *Sebacina* sp.2; 其中, 优势种为 *Sebacina* sp.2 (58.63%)、*L. inconspicuus* (27.35%) 和 *Rh. boninensis* (9.49%), 占总相对丰度 95.47%; 能侵染鳞苞锥的 ECMF 为 *Amanita* sp.、*C. geophilum*、*L. atrofusculus*、*R. minor*、*Sebacina* sp.2、*Thelephora* sp.2 和 *Tomentella* sp.2, 优势种为 *Sebacina* sp.2 (63.42%) 和 *C. geophilum* (22.83%), 占总相对丰度的 86.25%。

在鉴定到的 19 种 ECMF 中, 马尾松林下土壤特

表 1 苗木接种前后土壤理化性质
Table 1 Soil physicochemical property before and after seedling inoculation

时期 Period	处理 Treatment	pH值 pH value	全磷 TP/ (g·kg ⁻¹)	全钾 TK/ (g·kg ⁻¹)	有效磷 AP/ (mg·kg ⁻¹)	有效钾 AK/ (mg·kg ⁻¹)	全碳 TC/ (g·kg ⁻¹)	全氮 TN/ (g·kg ⁻¹)
移植前 Pretransplant	CcS	4.82±0.02a	0.85±0.03a	14.63±0.30a	32.67±0.65a	8.46±0.61a	22.37±0.47a	2.18±0.10a
	PmS	4.67±0.02b	0.54±0.05b	12.73±0.31a	15.38±0.71b	6.60±0.22a	17.74±0.05b	2.20±0.02a
Pm移植后 After Pm transplantation	CcS	4.80±0.01a	0.82±0.01a	14.63±0.12a	33.78±0.32a	8.52±0.12a	21.83±0.16a	2.12±0.02a
	PmS	4.61±0.01b	0.52±0.01b	12.45±0.19a	15.17±0.04b	6.06±0.10a	17.62±0.02b	2.20±0.03a
Cu移植后 After Cu transplantation	CcS	4.80±0.04a	0.82±0.01a	14.41±0.17a	33.86±0.29a	8.45±0.13a	22.01±0.24a	2.18±0.03a
	PmS	4.64±0.01b	0.52±0.01b	12.16±0.09a	15.75±0.11b	6.81±0.15a	17.61±0.02b	2.13±0.02a

Pm代表马尾松；Cu代表鳞苞锥；CcS代表米槠土壤；PmS代表马尾松土壤；不同小写字母表示独立样本t检验显著性差异（ $P<0.05$ ）。下同。
Pm: *P. massoniana*; Cu: *C. uraiana*; CcS: *C. carlesii* forest soil; PmS: Pm forest soil. Data with different lowercase letters indicate significant difference in Student's *t*-test ($P<0.05$). Same for all Tables and Figs.

表 2 不同森林土壤处理的马尾松和鳞苞锥的生长指标
Table 2 Growth indexes of Pm and Cc under various soil treatments

处理 Treatment	地上干重 Shoot dry weight/g	根干重 Root dry weight/g	根长 Root length/cm	根表面积 Root surface area/cm ²	根体积 Root volume/cm ³	根尖数 Root tips/个
Pm-PmS	0.20±0.02b	0.12±0.02a	17.95±2.00b	19.20±3.24b	0.32±0.06a	380±49.1b
Pm-CcS	0.62±0.05a	0.14±0.01a	36.50±2.27a	33.60±2.72a	0.38±0.03a	570±37.9a
Cu-PmS	0.36±0.03b	0.34±0.02a	18.40±1.10b	53.70±3.60a	0.41±0.04a	2399±152.0a
Cu-CcS	0.58±0.04a	0.41±0.03a	33.20±1.60a	55.50±3.45a	0.45±0.03a	2755±201.0a

Pm-PmS代表马尾松种植在马尾松土壤；Pm-CcS代表尾松种植在米槠土壤；Cu-PmS代表鳞苞锥种植在马尾松土壤；Cu-CcS代表鳞苞锥种植在米槠土壤。下同。

Pm-PmS: Pm planted in PmS; Pm-CcS: Pm planted in CcS; Cu-PmS: Cu planted in PmS; Cu-CcS: Cu planted in CcS. Same for all Tables and Figs.

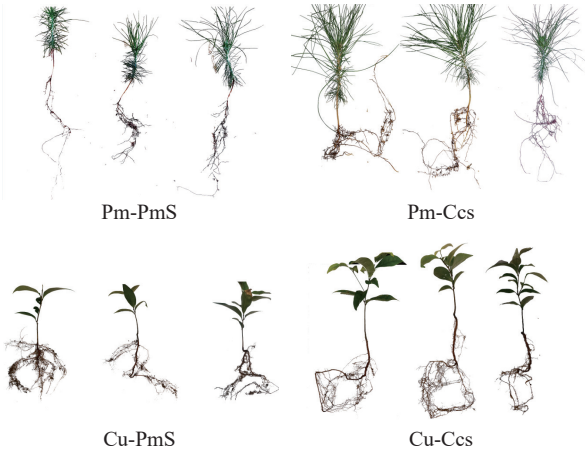


图 1 不同森林土壤处理的马尾松和鳞苞锥的生长状态

Fig. 1 Growth of Pm and Cu under various soil treatments

有的 ECMF 有 10 种，为 *Athelia* sp.、*Hyaloscyphaceae* sp.、*Rhizopogon flavidus*、*Russula* sp.、*Sebacina* sp.1、*Thelephora* sp.1、*Tomentella* sp.1、*Tomentella* sp.3、*Tomentella* sp.4 和 *Tomentellopsis submollis*；而米槠林下特有的 ECMF 有 6 种，为 *Amanita* sp.、*Lactarius inconspicuus*、*L. atrofuscus*、*Russula minor*、*Sebacina* sp.2 和 *Thelephora* sp.2；两种土壤共有的 ECMF 有 3 种，为 *Cenococcum geophilum*、*Rh. boninensis* 和 *Tomentella* sp.2；*C. geophilum* 和 *Sebacina* sp.2 均能与马尾松和鳞苞锥建立共生关系。而 *Hyaloscyphaceae*

sp.、*L. inconspicuus*、*Rh. boninensis*、*Rh. flavidus*、*Tomentella* sp.1、*Tomentella* sp.3 和 *T. submollis* 只侵染马尾松；*Athelia* sp.、*Amanita* sp.、*L. atrofuscus*、*R. minor*、*Russula* sp.、*Sebacina* sp.1、*Thelephora* sp.1、*Thelephora* sp.2 和 *Tomentella* sp.4 只侵染鳞苞锥。

2.3 马尾松和米槠林下土壤外生菌根真菌的多样性分析

马尾松和米槠林下土壤处理不同宿主中外生菌根真菌丰富度、Shannon 多样性指数和 Simpson 优势度指数显示（表 4、表 5），马尾松土壤的丰富度、Shannon 多样性指数和 Simpson 优势度指数均高于米槠土壤，表明两种土壤中，马尾松土壤中的 ECMF 群落组成更为丰富。

马尾松林下土壤接种马尾松和鳞苞锥后，共有的 ECMF 为 1 种，且其 Sorensen 相似性指数较低，为 0.14；而米槠林下土壤接种马尾松和鳞苞锥后，共有的 ECMF 为 2 种，但其 Sorensen 相似性指数（0.36）高于马尾松土壤，表明马尾松林下土壤的 ECMF 相对于米槠土壤，对寄主植物选择性的更强（表 6）。

2.4 马尾松林下土壤侵染马尾松和鳞苞锥幼苗的 ECMF 组成分析

如表 7 所示，马尾松林下土壤鉴定到的 13 种

表 3 马尾松和米槠林外生菌根真菌 OTUs 的鉴定
Table 3 ECMF OTUs in PmS and CcS

序号 No.	OTUs	属名 Genus	NCBI对比号 NCBI comparison number	序列长度/bp (相似度/%) Sequence length/bp (similarity/%)	相对丰度(%) / 相对频率(%) $R_a(\%) / R_f(\%)$			
					Pm-PmS (n=10)	Cu-PmS (n=15)	Pm-CcS (n=10)	Cu-CcS (n=15)
1	<i>Athelia</i> sp.	阿太菌属 <i>Athelia</i>	AB831863	570/585 (97%)	—	1.99/9.09	—	—
2	<i>Amanita</i> sp.	鹅膏属 <i>Amanita</i>	OK586725	525/578 (91%)	—	—	—	5.55/3.13
3	<i>Cenococcum geophilum</i>	空团菌属 <i>Cenococcum</i>	KC967408	448/449 (99%)	1.25/20.69	12.50/42.42	4.53/22.99	22.83/46.88
4	<i>Hyaloscyphaceae</i> sp.	—	MT522555	476/481 (99%)	0.46/3.45	—	—	—
5	<i>Lactarius inconspicuus</i>	乳菇属 <i>Lactarius</i>	KF433004	601/645 (93%)	—	—	27.35/26.44	—
6	<i>Lactarius atrofuscus</i>	<i>Lactarius</i>	MK351919	618/635 (97%)	—	—	—	0.26/1.56
7	<i>Rhizopogon boninensis</i>	须腹菌属 <i>Rhizopogon</i>	MK395368	629/633 (99%)	31.78/37.93	—	9.49/18.39	—
8	<i>Rhizopogon flavidus</i>	<i>Rhizopogon</i>	KP893815	745/746 (99%)	7.82/3.45	—	—	—
9	<i>Russula minor</i>	红菇属 <i>Russula</i>	NR_174896	593/593 (100%)	—	—	—	5.38/1.56
10	<i>Russula</i> sp.	<i>Russula</i>	MT522574	604/607 (99%)	—	7.80/9.09	—	—
11	<i>Sebacina</i> sp.1	蜡耳壳属 <i>Sebacina</i>	LC553305	507/542 (94%)	—	7.44/6.06	—	—
12	<i>Sebacina</i> sp.2	<i>Sebacina</i>	LC553304	531/537 (99%)	—	—	58.63/32.18	63.42/40.63
13	<i>Thelephora</i> sp.1	革菌属 <i>Thelephora</i>	KM576617	558/593 (94%)	—	41.88/15.15	—	—
14	<i>Thelephora</i> sp.2	<i>Thelephora</i>	HE814236	372/379 (98%)	—	—	—	0.14/3.13
15	<i>Tomentella</i> sp.1	棉隔菌属 <i>Tomentella</i>	AB848650	572/578 (99%)	37.89/17.24	—	—	—
16	<i>Tomentella</i> sp.2		HE814192	533/538 (99%)	3.61/6.90	—	—	2.42/3.13
17	<i>Tomentella</i> sp.3		MT678909	581/583 (99%)	16.00/3.45	—	—	—
18	<i>Tomentella</i> sp.4		JF273546	572/575 (99%)	—	28.40/18.18	—	—
19	<i>Tomentellopsis submollis</i>	<i>Tomentellopsis</i>	JQ711898	609/639 (95%)	1.19/6.90	—	—	—

“—”表示未被鉴定到。下同。
“—” means not identified. Same for below.

ECMF 中，能与马尾松和鳞苞锥共生的菌种为 *Cenococcum geophilum*，该菌种在鳞苞锥中的检测频率为 46.7%，高于马尾松（37.5%），但其在两种宿主植物中的侵染率较低，分别为 4.0% 和 6.1%。

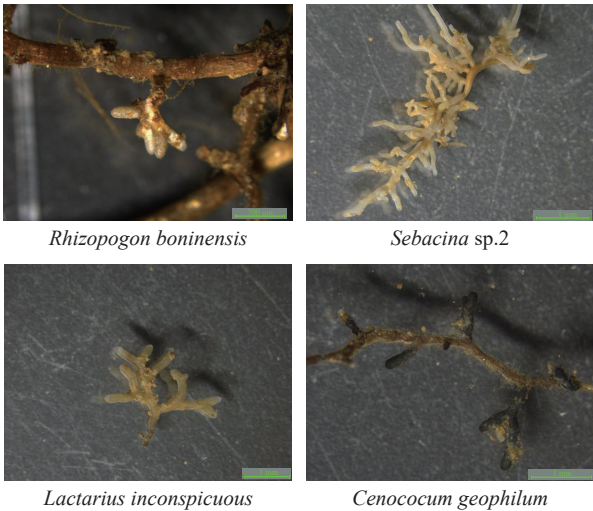


图 2 4 种主要的外生菌根形态结构
Fig. 2 Morphologies of 4 major types of ECMF

Tomentella sp.1、*Tomentella* sp.2、*Tomentella* sp.3、*Rhizopogon boninensis*、*Rh. flavidus*、*Tomentellopsis submollis* 和 *Hyaloscyphaceae* sp.只侵染马尾松；其中，*Rh. boninensis* 的检测频率最高，为 68.8%，其次为 *Tomentellasp.1*（31.3%）和 *Tomentellasp.2*（12.5%），而 *Tomentella* sp.3、*Rh. flavidus*、*T. submollis* 和 *Hyaloscyphaceae* sp.的检测频率较低，皆为 6.3%；*Tomentella* sp.3 的侵染率最高，为 87.0%，其次为 *Tomentella* sp.1（67.8%）、*Rh. boninensis*（44.5%）、*Tomentella* sp.2（41.5%）和 *Rh. flavidus*（38.0%），而 *T. submollis* 和 *Hyaloscyphaceae* sp.的侵染率较低，均为 4.0%。只侵染鳞苞锥的有 *Tomentella* sp.4、*Thelephora* sp.1、*Sebacina* sp.1、*Athelia* sp.和 *Russula* sp.；其中，*Tomentella* sp.4 的检测频率最高，为 20%，其次为 *Thelephora* sp.1（16.7%），而 *Athelia* sp.、*Russula* sp.和 *Sebacina* sp.1 的检测频率较低，分别为 10.0%、10.0% 和 6.7%；*Thelephora* sp.1 的侵染率最高，为 48.1%，其次为 *Thelephora* sp.1（31.8%）、*Tomentella* sp.4（30.0%）和 *Russula* sp.（16.9%），而

表 4 马尾松和米槠林下土壤中外生菌根真菌 OTUs 分类统计
Table 4 OTU classification of ECMF in PmS and CcS

门 Phylum	纲 Class	目 Order	科 Family	属 Genus	OTUs	
					PmS	CcS
担子菌门 Basidiomycota	伞菌纲 Agaricomycetes	Boleales	须腹菌科 Rhizopogonaceae	须腹菌属 <i>Rhizopogon</i>	2	1
		革菌目 Thelephorales	革菌科 Thelephoraceae	棉隔菌属 <i>Tomentella</i>	4	1
				<i>Tomentellopsis</i>	1	0
				革菌属 <i>Thelephora</i>	1	1
		蜡耳壳目 Sebaciales	蜡耳壳科 Sebacinaceae	蜡耳壳属 <i>Sebacina</i>	1	1
		红菇目 Russulales	红菇科 Russulaceae	乳菇属 <i>Lactarius</i>	0	2
				红菇属 <i>Russula</i>	1	1
		阿太菌目 Atheliales	阿太菌科 Atheliaceae	阿太菌属 <i>Athelia</i>	1	0
		伞菌目 Agaricales	鹅膏菌科 Amanitaceae	鹅膏属 <i>Amanita</i>	0	1
子囊菌门 Ascomycota	锤舌菌纲 Leotiomycetes	蜡钉菌目 Helotiales	Hyalodyphaceae	—	1	0
	座囊菌纲 Dothideomycetes	贝壳菌目 Mytilinidiales	船壳菌科 Gloniaceae	空团菌属 <i>Cenococcum</i>	1	1

表 5 马尾松和米槠林下土壤处理不同宿主外生菌根真菌 OTUs 丰富度和多样性指数

处理 Treatment	ECMF丰富度 ECMF richness	多样性指数 Shannon index	优势度指数 Simpson index
Pm-PmS	13	1.72	0.77
Cu-PmS		1.60	0.77
Pm-CcS	9	1.26	0.68
Cu-CcS		1.17	0.60

表 6 马尾松和米槠林下土壤处理不同宿主中共有外生菌根真菌类群数量 (上三角) 和 Sorensen 指数 (下三角)

处理 Treatment	Pm-PmS	Cu-PmS	Pm-CcS	Cu-CcS
Pm-PmS	—	1	2	2
Cu-PmS	0.14	—	1	1
Pm-CcS	0.33	0.20	—	2
Cu-CcS	0.27	0.15	0.36	—

表 7 马尾松林下土壤侵染马尾松和鳞苞锥幼苗的外生菌根真菌组成分析
Table 7 ECMF in PmS of infected Pm and Cu seedlings

OTUs	属名 Genus	检测频率 Detection frequency/%		侵染率 Infection rate/%	
		Pm (n=10)	Cu (n=15)	Pm (n=10)	Cu (n=15)
<i>Cenococcum geophilum</i>	空团菌属 <i>Cenococcum</i>	37.5	46.7	4.0	6.1
<i>Tomentella</i> sp.1	棉隔菌属 <i>Tomentella</i>	31.3	—	67.8	—
<i>Tomentella</i> sp.2		12.5	—	41.5	—
<i>Tomentella</i> sp.3		6.3	—	87.0	—
<i>Tomentella</i> sp.4		—	20.0	—	30.0
<i>Rhizopogon boninensis</i>	须腹菌属 <i>Rhizopogon</i>	68.8	—	44.5	—
<i>Rhizopogon flavidus</i>		6.3	—	38.0	—
<i>Tomentellopsis submollis</i>	<i>Tomentellopsis</i>	6.3	—	4.0	—
<i>Hyaloscyphaceae</i> sp.	—	6.3	—	4.0	—
<i>Thelephora</i> sp.1	革菌属 <i>Thelephora</i>	—	16.7	—	48.1
<i>Sebacina</i> sp.1	蜡耳壳属 <i>Sebacina</i>	—	6.7	—	31.8
<i>Athelia</i> sp.	阿太菌属 <i>Athelia</i>	—	10.0	—	5.4
<i>Russula</i> sp.	红菇属 <i>Russula</i>	—	10.0	—	16.9

Athelia sp.的侵染率最低, 为 5.4%。

2.5 米槠林下土壤侵染马尾松和鳞苞锥幼苗的 ECMF 组成分析

如表 8 所示, 米槠林下土壤鉴定到的 9 种 ECMF 中, 能与马尾松和鳞苞锥共生的菌种为 *Cenococcum geophilum* 和 *Sebacina* sp.2, 其中 *C. geophilum* 在鳞苞锥中的检测频率最高, 为 100.0%, 是马尾松的 1.5 倍, 但其在两种宿主植物中的侵染率较低, 分别为 8.2% 和 10.1%; *Sebacina* sp.2 在马尾松和鳞苞锥中具有较高的检测频率, 为 93.3% 和 86.7%, 但其在马尾松的侵染率为 54.9%, 高于鳞苞锥 (31.4%)。 *Lactarius inconspicuou*s 和 *Rhizopogon boninensis* 只侵染马尾松, 但 *L. inconspicuou*s 的检测频率和侵染率 (76.7%; 32.2%) 均高于 *Rh. boninensis* (50.0%; 18.1%)。只侵染鳞苞锥的有 *L. atrofuscu*s、*Thelephora* sp.2、*Tomentella* sp.2、*Amanita* sp.和 *Russula minor*, 这五种菌种在鳞

苞锥中的检测频率均较低, 分别为 3.3%、6.7%、6.7%、3.3% 和 6.7%; *R. minor* 的侵染率最高, 为 65.4%, 其次为 *Amanita* sp. (44.5%) 和 *Tomentella* sp.2 (21.5%), 而 *L. atrofuscu*s 和 *Thelephora* sp.2 的侵染率较低, 均为 1.0%。

2.6 ECMF 侵染率与土壤理化性质相关性分析

对检测频率较高 ($\geq 35\%$) 的 ECMF 侵染率与土壤理化性质进行 Pearson 相关性分析, 如表 9 所示, 在鳞苞锥种植于马尾松土壤试验中 (Cu-PmS), *Cenococcum geophilum* 侵染率与土壤全钾 (TK) 呈显著负相关 ($P<0.05$)。在鳞孢锥种植于米槠土壤中 (Cu-CcS), *Sebacina* sp.2 侵染率与土壤 pH 呈显著正相关 ($P<0.05$)。

2.7 ECMF 侵染率与苗木生长指标相关性分析

对检测频率较高 ($\geq 35\%$) 的 ECMF 侵染率与苗木生长指标进行 Pearson 相关性分析, 如表 10 所示,

表 8 米槠林下土壤侵染马尾松和鳞苞锥幼苗的外生菌根真菌组成分析
Table 8 ECMF in CcS of infected Pm and Cu seedlings

属名 Genus	OTUs	检测频率 Detection frequency/%		侵染率 Infection rate/%	
		Pm (n=10)	Cu (n=15)	Pm (n=10)	Cu (n=15)
空团菌属 <i>Cenococcum</i>	<i>Cenococcum geophilum</i>	66.7	100.0	8.2	10.1
蜡耳壳属 <i>Sebacina</i>	<i>Sebacina</i> sp.2	93.3	86.7	54.9	31.4
乳菇属 <i>Lactarius</i>	<i>Lactarius inconspicuou</i> s	76.7	—	32.2	—
	<i>Lactarius atrofuscu</i> s	—	3.3	—	1.0
须腹菌属 <i>Rhizopogon</i>	<i>Rhizopogon boninensis</i>	50.0	—	18.1	—
革菌属 <i>Thelephora</i>	<i>Thelephora</i> sp.2	—	6.7	—	1.0
棉隔菌属 <i>Tomentella</i>	<i>Tomentella</i> sp.2	—	6.7	—	21.5
鹅膏属 <i>Amanita</i>	<i>Amanita</i> sp.	—	6.7	—	44.5
红菇属 <i>Russula</i>	<i>Russula minor</i>	—	3.3	—	65.4

表 9 外生菌根真菌侵染率与土壤理化性质的相关性分析
Table 9 Correlation between ECMF infection rate and soil physiochemical properties

处理 Treatment	OTUs	pH值 pH value	全磷 TP	全钾 TK	有效磷 AP	有效钾 AK	全碳 TC	全氮 TN
Pm-PmS	<i>Cenococcum geophilum</i>	0.622	0.456	-0.388	0.509	0.018	0.275	-0.469
	<i>Rhizopogon boninensis</i>	-0.314	-0.215	0.166	-0.072	0.138	-0.231	-0.435
Pm-Ccs	<i>Cenococcum geophilum</i>	0.284	-0.079	-0.125	-0.189	-0.180	0.050	0.330
	<i>Rhizopogon boninensis</i>	-0.127	-0.029	0.206	0.086	-0.089	0.199	0.077
	<i>Sebacina</i> sp.2	-0.022	-0.094	0.118	-0.090	0.233	0.089	-0.136
	<i>Lactarius inconspicuou</i> s	-0.190	0.177	-0.209	0.271	-0.256	-0.023	0.116
Cu-PmS	<i>Cenococcum geophilum</i>	-0.074	-0.023	-0.557*	0.378	0.165	0.379	-0.319
Cu-Ccs	<i>Cenococcum geophilum</i>	0.047	0.106	-0.027	0.074	-0.088	0.004	0.234
	<i>Sebacina</i> sp.2	0.455*	-0.121	0.074	-0.134	0.077	0.154	0.232

*表示相关在 $P<0.05$ 水平显著。
* indicates significant correlation at $P<0.05$.

在鳞苞锥种植于马尾松土壤中（Cu-PmS），*Cenococcum geophilum* 侵染率与鳞苞锥地上部生物量呈显著负相关（ $P<0.01$ ）。

表 10 外生菌根真菌侵染率与苗木生长量的相关性分析
Table 10 Correlation between ECMF infection rate and seedling biomass

处理 Treatment	OTUs	地上干重 Shoot dry weight	根干重 Root dry weight	根长 Root length	根表面积 Root surface area	根体积 Root volume	根尖数 Root tips
Pm-PmS	<i>Cenococcum geophilum</i>	-0.099	-0.095	-0.199	-0.065	-0.150	0.150
	<i>Rhizopogon boninensis</i>	-0.068	0.006	0.028	-0.053	0.037	0.020
Pm-Ccs	<i>Cenococcum geophilum</i>	-0.321	-0.325	-0.137	-0.337	-0.367	-0.304
	<i>Rhizopogon boninensis</i>	0.098	-0.088	-0.12	-0.015	-0.026	-0.102
	<i>Sebacina</i> sp.2	-0.149	-0.027	-0.324	-0.043	-0.020	0.117
	<i>Lactarius inconspicuous</i>	0.088	-0.038	0.350	0.003	0.045	-0.139
Cu-PmS	<i>Cenococcum geophilum</i>	-0.687**	-0.229	-0.370	-0.226	-0.200	-0.045
Cu-Ccs	<i>Cenococcum geophilum</i>	0.056	-0.047	-0.074	-0.020	0.064	-0.079
	<i>Sebacina</i> sp.2	0.192	0.004	-0.275	0.152	0.253	-0.220

**表示相关在 $P<0.01$ 水平显著。
** indicates significant correlation at $P<0.01$.

3 讨论与讨论

ECMF 是所有菌根真菌中种类最为丰富的^[25]。植物与 ECMF 发生共生关系时，植物通过菌丝从土壤中获得水分和营养物质，而 ECMF 从宿主植物中获得光合产物或碳水化合物^[26-27]。值得注意的是，ECMF 对宿主植物具有强烈的选择偏好性，且这是一个长期相互选择和适应的过程^[28]。同时，不同 ECMF 对宿主植物的共生选择性不同，因此植物与菌根共生在很大程度上受到宿主植物的影响。目前的研究只明确了一些影响宿主植物和 ECMF 共生的因素，但探究宿主植物对 ECMF 群落的影响是研究 ECMF 与植物共生的重要内容。因此，本研究通过不同土壤菌源对不同树种的接种试验，探讨不同状态下 ECMF 对宿主的选择性，并通过土壤养分指标和苗木生长指标等多个角度来分析其造成差异的原因，对今后探究森林物种多样性维持机制、菌根宿主关系、生物多样性保护及生态恢复具有重要意义。

在本研究中，*Cenococcum geophilum*、*Rhizopogon boninensis* 和 *Tomentella* sp.2 为马尾松土壤和米槠土壤共有的 ECMF；其中，*C. geophilum* 不仅存在于两种森林土壤中，并且皆能与马尾松和鳞苞锥建立共生关系，属于“广谱型菌根真菌”；有大量研究表明，*C. geophilum* 是森林生态系统中最常见的外生菌根真菌，能够与具有广泛的生境范围，能够与桦木科（Betulaceae）、壳斗科（Fagaceae）、松科（Pinaceae）

等形成外生菌根，且具有较强的抗逆性和抗贫瘠能力，是各种逆境环境下的优势菌群之一，能够通过改变土壤根系的 pH 值及营养分布来调节土壤微环境，从而调控森林生态群落的稳定性^[29-32]。不仅如此，*C. geophilum* 还可以提高宿主植物对营养物质和水分的吸收能力，促进植物的生长，抵抗恶劣环境的胁迫^[33-34]。但在本研究中，马尾松土壤处理下的鳞苞锥根部 *C. geophilum* 的侵染率与地上部干重呈显著负相关。这可能是因为马尾松土壤中的养分含量显著低于米槠土壤，在养分较低的马尾松土壤中，鳞苞锥所产生的碳水化合物首先需要维持自身生长，因此减少了向 *C. geophilum* 的输送，而碳水化合物是植物为共生的菌根真菌提供碳源营养的主要形式，因此当苗木留给自身碳水化合物增多时，ECMF 的侵染率有所降低^[35]。*Rh. boninensis* 皆存在于两种不同森林土壤中，但其对马尾松具有较强的选择性，且在米槠土壤中相对丰度和相对频率明显低于马尾松土壤，因此米槠林下的 *Rh. boninensis* 的孢子可能源自附近的马尾松林，并且能够在土壤中长期存活。在以往的研究中，须腹菌属（*Rhizopogon*）被证明是针叶树种中常见的 ECMF，是因为该菌属具有丰富的共生策略，能够联系同一群落的各种植物体，对环境适应能力强^[36-37]。革菌属（*Thelephora*）和红菇属（*Russula*）的不同 ECMF 种各存在于两种土壤中，但只对鳞苞锥具有选择性，黄秋晨等研究表明革菌属广泛分布于松科与壳斗科组成的针阔混

交林中,而红菇属早已被证明是壳斗科的优势菌属之一^[38-39]。

本研究结果表明,马尾松土壤中的 ECMF 更倾向于侵染马尾松幼苗,而米槠林下土壤的 ECMF 更倾向于侵染同为壳斗科的鳞苞锥;但马尾松土壤中有部分 ECMF 对鳞苞锥具有选择性,而米槠土壤中也存在只侵染马尾松的 ECMF,这些 ECMF 可能来自其他样地的 ECMF 孢子迁移;米槠土壤接种不同宿主植物后其 Sorensen 相似性指数明显高于马尾松土壤,表明马尾松林下土壤的 ECMF 相对于米槠土壤,对寄主植物选择性的更强。在森林生态系统中,ECMF 发挥着重要作用,不同 ECMF 群落是由于 ECMF 与宿主植物、其他微生物以及环境因子之间相互选择、相互影响的结果。而 ECMF 与植物之间长期的相互选择,导致了 ECMF 对个别宿主植物产生了特异性富集^[40-42]。这可能与植物的防御机制及两者所产生的共生信号分子有关,在植物根际土壤中存在各式各样的微生物,ECMF 与宿主植物形成共生关系需要建立和维持外生菌根共生体所需的分子信号^[43]。因此,ECMF 对宿主植物的选择性不同是生态系统共同进化的结果。

大部分 ECMF 的生命活动都存在于土壤中,因此,ECMF 的定殖在一定程度上会受到寄主植物所在土壤的养分的影响,而宿主植物会分泌不同的根系分泌物来影响土壤理化性质的变化,如分泌有机酸导致土壤酸化。研究表明,根系分泌物可以通过影响土壤环境条件来改变土壤中微生物特性,而土壤微生物又直接或者间接的参与土壤有机质分解和养分释放的过程^[44]。两种森林土壤接种不同的宿主后,各 ECMF 的侵染率呈现出不同的变化趋势。土壤中养分含量的不同也会影响 ECMF 的共生,通过测定马尾松和鳞苞锥幼苗的生长状况及土壤养分,发现米槠林下土壤养分以及接种苗木的生长状态优于马尾松土壤,但马尾松土壤的 ECMF 丰富度、Shannon 多样性指数和 Simpson 优势度指数却明显高于米槠土壤,说明养分含量越高的土壤中 ECMF 的多样性较低,Smit 等早已研究表明土壤中过高的养分含量会抑制 ECMF 菌丝的生长从而影响其与宿主植物的共生^[45]。本研究中,两种土壤 pH 值的测定结果均为弱酸性(4.5~4.8)。pH 值能够影响 ECMF 的生长及其菌丝的代谢,并且能够改变宿主植物与 ECMF 的生理过程,从而影响 ECMF 与宿主植物的共生^[46]。而弱酸性则是最适合 ECMF 生长的 pH 值,过高或过低的 pH 值都不利于 ECMF 的侵染和繁殖^[47-48]。同样,米槠和马尾松的最适生长 pH 值也为

弱酸性,可见 ECMF 与两种宿主植物均有相似的生长最适 pH 值,说明马尾松与米槠能在酸性土壤中生长可能与 ECMF 的共生有关^[49-50]。

在森林生态系统中,ECMF 的定殖主要受所宿主植物的不同、ECMF 自身的生物学特性以及所在土壤的理化性质差异的影响。因此,根据不同宿主及其所生长的土壤理化性质来选择与之共生的 ECMF,实现“适地适树适菌”,不仅能节约成本,还能使生态效益和经济效益实现最大化。由于该试验是在室内,并非是对野外森林进行普遍调查,并不能满足自然环境所具备的条件,但为后期研究 ECMF 对不同宿主的侵染能力提供了理论参考。

参考文献:

- [1] 斯钦毕力格,赵敏,白淑兰. 外生菌根研究进展 [J]. 分子植物育种, 2017, 15 (2): 757-762.
SI Q, ZHAO M, BAI S L. Research progress of ectomycorrhiza [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2017, 15 (2): 757-762. (in Chinese)
- [2] 苏红飞,万杰,伍建榕,等. 云南松菌根菌的分离培养条件筛选 [J]. 林业调查规划, 2008, 33 (2): 135-138.
SU H F, WAN J, WU J R, et al. Culture Conditions' Selection for the separation of the mycorrhizal fungi of *Pinus yunnanensis* [J]. *Forest Inventory and Planning*, 2008, 33 (2): 135-138. (in Chinese)
- [3] 张亮,王明霞,张薇,等. 外生菌根真菌对土壤钾的活化作用 [J]. 微生物学报, 2014, 54 (7): 786-792.
ZHANG L, WANG M X, ZHANG W, et al. Mobilization of potassium from soil by ectomycorrhizal fungi [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2014, 54 (7): 786-792. (in Chinese)
- [4] 佟丽华,张红光,姚鑫. 外生菌根真菌的作用与应用开发前景展望 [J]. 安徽农学通报, 2008, 14 (14): 86-89.
TONG L H, ZHANG H G, YAO X. Prospects of exploitation and utilization of ecto-mycorrhiza [J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2008, 14 (14): 86-89. (in Chinese)
- [5] LIU Y J, LI X Z, KOU Y P. Ectomycorrhizal fungi: Participation in nutrient turnover and community assembly pattern in forest ecosystems [J]. *Forests*, 2020, 11 (4): 453.
- [6] STEIDINGER B S, CROWTHER T W, LIANG J, et al. Author Correction: Climatic controls of decomposition drive the global biogeography of forest-tree symbioses [J]. *Nature*, 2019, 571: E8.
- [7] GENRE A, LANFRANCO L, PEROTTO S, et al. Unique and common traits in mycorrhizal symbioses [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 18: 649-660.
- [8] HIBBETT D S, GILBERT L B, DONOGHUE M J. Evolutionary instability of ectomycorrhizal symbioses in basidiomycetes [J]. *Nature*, 2000, 407: 506-508.
- [9] FLOUDAS D, BINDER M, RILEY R, et al. The Paleozoic origin of enzymatic lignin decomposition reconstructed from 31 fungal genomes [J]. *Science*, 2012, 336 (6089): 1715-1719.
- [10] PELLITIER P T, ZAK D R. Ectomycorrhizal fungi and the enzymatic liberation of nitrogen from soil organic matter: Why evolutionary

- history matters [J]. *The New Phytologist*, 2018, 217 (1): 68–73.
- [11] 俞嘉瑞, 袁海生. 外生菌根真菌的共生互作和宿主选择机制研究进展 [J]. 菌物学报, 2023, 42 (1): 86–100.
- YU J R, YUAN H S. Research progress on symbiotic interaction and host selection mechanisms of ectomycorrhizal fungi [J]. *Mycosystema*, 2023, 42 (1): 86–100. (in Chinese)
- [12] RIGAMONTE T A, PYLRO V S, DUARTE G F. The role of mycorrhization helper bacteria in the establishment and action of ectomycorrhizae associations [J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2010, 41 (4): 832–840.
- [13] VAN DER LINDE S, SUZ L M, ORME C D L, et al. Environment and host as large-scale controls of ectomycorrhizal fungi [J]. *Nature*, 2018, 558: 243–248.
- [14] 卢丽君, 白淑兰, 王静, 等. 外生菌根合成的条件及形成机制 [J]. 微生物学杂志, 2005, 25 (2): 84–87.
- LU L J, BAI S L, WANG J, et al. Synthesis conditions of ectomycorrhiza and its formation mechanism [J]. *Journal of Microbiology*, 2005, 25 (2): 84–87. (in Chinese)
- [15] DICKIE I A. Host preference, niches and fungal diversity [J]. *New Phytologist*, 2007, 174 (2): 230–233.
- [16] 孟繁荣, 邵景文. 东北主要林区针叶林下外生菌根真菌及生态分布 [J]. 菌物系统, 2001, 20 (3): 413–419.
- MENG F R, SHAO J W. The ecological distribution of ectomycorrhizal fungi in main coniferous forests in Northeast China [J]. *Mycosystema*, 2001, 20 (3): 413–419. (in Chinese)
- [17] PALMER J M, LINDNER D L, VOLK T J. Ectomycorrhizal characterization of an American chestnut (*Castanea dentata*)-dominated community in Western Wisconsin [J]. *Mycorrhiza*, 2008, 19 (1): 27–36.
- [18] 康文斯. 川东地区四种马尾松林分类型外生菌根真菌群落多样性的研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2020.
- KANG W S. Diversity of ectomycorrhizal fungal communities in four types of *Pinus massoniana* stands in eastern sichuan[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2020. (in Chinese)
- [19] TEDERSOO L, MAY T W, SMITH M E. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: Global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages [J]. *Mycorrhiza*, 2010, 20 (4): 217–263.
- [20] 耿荣, 耿增超, 黄建, 等. 秦岭辛家山林区锐齿栎外生菌根真菌多样性 [J]. 菌物学报, 2016, 35 (7): 833–847.
- GENG R, GENG Z C, HUANG J, et al. Diversity of ectomycorrhizal fungi associated with *Quercus aliena* in Xinjiashan forest region of Qinling Mountains [J]. *Mycosystema*, 2016, 35 (7): 833–847. (in Chinese)
- [21] NAGAIKE T, HAYASHI A, KUBO M, et al. Changes in plant species diversity over 5 years in *Larix kaempferi* plantations and abandoned coppice forests in central Japan [J]. *Forest Ecology and Management*, 2006, 236 (2/3): 278–285.
- [22] HUANG J, HAN Q S, LI J J. Soil propagule bank of ectomycorrhizal fungi associated with Masson pine (*Pinus massoniana*) grown in a manganese mine wasteland [J]. *PLoS One*, 2018, 13 (6): e0198628.
- [23] 成斌斌. 土壤pH的测定 [J]. 化学教与学, 2014 (4): 95–97.
- CHENG B B. Determination of soil pH [J]. *Chemistry Teaching and Learning*, 2014 (4): 95–97. (in Chinese)
- [24] 胡慧蓉, 王艳霞. 土壤学实验指导教程[M]. 2版. 北京: 中国林业出版社, 2020.
- HU H R, WANG Y X. Experimental tutorial of soil science[M]. 2nd ed. Beijing: China Forestry Publishing House, 2020. (in Chinese)
- [25] MARTIN F, KOHLER A, MURAT C, et al. Unearthing the roots of ectomycorrhizal symbioses [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14: 760–773.
- [26] PENA R, POLLE A. Attributing functions to ectomycorrhizal fungal identities in assemblages for nitrogen acquisition under stress [J]. *The ISME Journal*, 2014, 8 (2): 321–330.
- [27] KAISER C, KORANDA M, KITZLER B, et al. Belowground carbon allocation by trees drives seasonal patterns of extracellular enzyme activities by altering microbial community composition in a beech forest soil [J]. *New Phytologist*, 187(3): 843–858.
- [28] TEDERSOO L, JAIRUS T, HORTON B M, et al. Strong host preference of ectomycorrhizal fungi in a Tasmanian wet sclerophyll forest as revealed by DNA barcoding and taxon-specific primers [J]. *The New Phytologist*, 2008, 180 (2): 479–490.
- [29] WU B Y, NIOH I. Some characteristics of bacteria isolated from the ectomycorrhiza of Chinese pine inoculated with *Cenococcum graniforme* [J]. *Microbes and Environments*, 1998, 13 (1): 17–21.
- [30] MIKOLA P. On the physiology and ecology of *Cenococcum graniforme* [J]. *Forest*, 1948, 36 (3): 1–104.
- [31] 乌仁陶格斯, 韩胜利, 闫伟. 浅析土生空团菌自然侵染率与植被、根际土壤因子的关系 [J]. 中国农学通报, 2012, 28 (25): 47–51.
- WU R, HAN S L, YAN W. The relationship between natural infection rate of *Cenococcum geophilum* and vegetation, rhizosphere soil factors [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 28 (25): 47–51. (in Chinese)
- [32] 郭子轩, 王永龙, 武彬蔚, 等. 外生菌根真菌土生空团菌种群遗传多样性与结构研究 [J]. 菌物学报, 2021, 40 (4): 920–935.
- GUO Z X, WANG Y L, WU B W, et al. Population genetic diversity and structure of ectomycorrhizal fungus *Cenococcum geophilum* [J]. *Mycosystema*, 2021, 40 (4): 920–935. (in Chinese)
- [33] MATSUDA Y, YAMAKAWA M, INABA T, et al. Intraspecific variation in mycelial growth of *Cenococcum geophilum* isolates in response to salinity gradients [J]. *Mycoscience*, 2017, 58 (5): 369–377.
- [34] JANY J L, MARTIN F, GARBAYE J. Respiration activity of ectomycorrhizas from *Cenococcum geophilum* and *Lactarius* sp. in relation to soil water potential in five beech forests [J]. *Plant and Soil*, 2003, 255 (2): 487–494.
- [35] CASIERI L, AIT LAHMIDI N, DOIDY J, et al. Biotrophic transportome in mutualistic plant–fungal interactions [J]. *Mycorrhiza*, 2013, 23 (8): 597–625.
- [36] RUSCA T A, KENNEDY P G, BRUNS T D. The effect of different pine hosts on the sampling of *Rhizopogon* spore banks in five Eastern Sierra Nevada forests [J]. *The New Phytologist*, 2006, 170 (3): 551–560.
- [37] BEILER K J, DURALL D M, SIMARD S W, et al. Architecture of the wood-wide web: *Rhizopogon* spp. genets link multiple Douglas-fir cohorts [J]. *The New Phytologist*, 2010, 185 (2): 543–553. [PubMed].
- [38] 秦岭, 徐践, 马萱, 等. 板栗共生菌根真菌种类及其发生规律的研究

- [J]. 北京农学院学报, 1995, 10 (1): 71-76.
- QIN L, XU J, MA X, et al. Research on Symbiotical Fungi Species and Ectomycorrhizae Occurrence of Chestnut (*Castanea mollissima* BL.) [J]. *Journal of Beijing Agricultural College*, 1995, 10 (1): 71-76. (in Chinese)
- [39] 黄秋晨, 梁香娜, 张颖. 外生菌根菌: 干巴菌的研究进展 [J]. 中国食用菌, 2022, 41 (10): 14-17, 25.
- HUANG Q C, LIANG X N, ZHANG Y. Research progress of the ectomycorrhizal fungus *Thelephora ganbajun* [J]. *Edible Fungi of China*, 2022, 41 (10): 14-17, 25. (in Chinese)
- [40] 魏江春. 菌物多样性、系统性及其对人类发展的意义 [J]. 生物多样性, 1993, 1 (1): 23-25.
- WEI J C. Biological diversity and systematicity of panomycetes, and their significance to the development of human beings [J]. *Chinese Biodiversity*, 1993, 1 (1): 23-25. (in Chinese)
- [41] TEDERSOO L, SADAM A, ZAMBRANO M, et al. Low diversity and high host preference of ectomycorrhizal fungi in western *Amazonia*, a neotropical biodiversity hotspot [J]. *The ISME Journal*, 2010, 4 (4): 465-471.
- [42] DING Q, LIANG Y, LEGENDRE P, et al. Diversity and composition of ectomycorrhizal community on seedling roots: The role of host preference and soil origin [J]. *Mycorrhiza*, 2011, 21 (8): 669-680.
- [43] GARCIA K, DELAUX P M, COPE K R, et al. Molecular signals required for the establishment and maintenance of ectomycorrhizal symbioses [J]. *The New Phytologist*, 2015, 208 (1): 79-87.
- [44] 李娇, 蒋先敏, 尹华军, 等. 不同林龄云杉人工林的根系分泌物与土壤微生物 [J]. 应用生态学报, 2014, 25 (2): 325-332.
- LI J, JIANG X M, YIN H J, et al. Root exudates and soil microbes in three *Picea asperata* plantations with different stand ages [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25 (2): 325-332. (in Chinese)
- [45] SMIT E, VEENMAN C, BAAR J. Molecular analysis of ectomycorrhizal basidiomycete communities in a *Pinus sylvestris* L. stand reveals long-term increased diversity after removal of litter and humus layers [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 45 (1): 49-57.
- [46] 周慧杰. 培养液pH对外生菌根真菌生长影响分析 [J]. 中国食用菌, 2019, 38 (8): 42-44.
- ZHOU H J. Analysis of the effect of culture pH of medium on the growth of ectomycorrhizal fungi [J]. *Edible Fungi of China*, 2019, 38 (8): 42-44. (in Chinese)
- [47] 许美玲, 朱教君, 孙军德, 等. 树木外生菌根菌与环境因子关系研究进展 [J]. 生态学杂志, 2004, 23 (5): 212-217.
- XU M L, ZHU J J, SUN J D, et al. A review on the relationships between forest Ectomycorrhizal fungi and environmental factors [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2004, 23 (5): 212-217. (in Chinese)
- [48] 韩桂云, 齐玉臣, 刘忱, 等. 温度、pH对菌根真菌生长影响的研究 [J]. 生态学杂志, 1993, 12 (1): 15-19.
- HAN G Y, QI Y C, LIU C, et al. Effects of Temperature and pH on Mycorrhizal Fungus Growth [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 1993, 12 (1): 15-19. (in Chinese)
- [49] 蔡万宣. 马尾松育苗造林管理 [J]. 特种经济动植物, 2018, 21 (6): 31-32.
- CAI W X. Management of *Pinus massoniana* seedling and afforestation [J]. *Special Economic Animal and Plant*, 2018, 21 (6): 31-32. (in Chinese)
- [50] 张伟军, 陈灼华. 优良乡土树种米槎营养杯育苗技术 [J]. 现代农业科技, 2011 (14): 231.
- ZHANG W J, CHEN Z H. Seedling raising techniques of *Castanopsis carlesii*, an excellent native tree species, in nutrient cups [J]. *Modern Agricultural Sciences and Technology*, 2011 (14): 231. (in Chinese)

(责任编辑: 林海清)